



Hélio Filipe Araújo Pereira

Licenciado em Energias Renováveis

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia das
Energias Renováveis

**Produção de biogás a partir da codigestão anaeróbia entre
FORSU e Resíduos da Cultura do Milho**

Orientador: Professor Doutor Nuno Lapa, Professor Auxiliar,
da UNL/FCT

Coorientador: Professor Doutor Mário Ventim Neves,
Professor Auxiliar da UNL/FCT

Presidente: Prof. Doutor Pedro Pereira

Arguente: Prof. Doutora Elizabeth Duarte

Vogal: Prof. Doutor Nuno Lapa



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2018

**Produção de Biogás a partir da codigestão anaeróbia entre
FORSU e Resíduos provenientes da Cultura do Milho.**

© Hélio Filipe Araújo Pereira
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Universidade Nova e Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Doutor Nuno Lapa, Professor Auxiliar da FCT-UNL, por ter me dado a oportunidade de realizar este trabalho, bem como pela orientação, ajuda no trabalho laboratorial na parte escrita da dissertação, amizade e conhecimentos transmitidos. Muito obrigado por esta experiência.

Ao Professor Doutor Mário Ventim Neves, Professor Auxiliar da FCT-UNL, por me ter dado a oportunidade de realizar o Mestrado em Engenharia das Energias Renováveis e por ter coorientado este trabalho.

À Elena Surra, aluna de Doutoramento, da FCT-UNL, pela imensa ajuda na parte laboratorial e na escrita, mas também pela sua amizade, confiança, disponibilidade e motivação.

À Sr^a. Rita Braga, técnica do DCTB/FCT/UNL, e à Sr^a. Rosa Pinto, auxiliar de laboratório do DCTB/FCT/UNL, por manterem sempre o laboratório e os materiais disponíveis e em ótimas condições para todos os alunos.

Ao Diogo Dias, aluno de Doutoramento, da FCT-UNL, pelo apoio no laboratório, pela amizade e pelos momentos de companheirismo.

Ao Miguel Nogueira, bolseiro de investigação, da FCT-UNL, pelo apoio e motivação para realizar este trabalho, bem como pela amizade e pelos momentos de companheirismo.

À Carolina, ao João, ao Miguel, ao Valter e ao Tiago pelos excelentes momentos vividos ao longo desta fase. Obrigado pela vossa amizade e espero-vos cá um dia nos Açores. As madalenas de cá são melhores.

Finalmente, aos meus Pais e Família, mas, sobretudo ao meu Padrinho e Madrinha, uma vez que sem eles, todo este percurso académico não teria sido possível.

Agradece-se ao financiamento da ERANET LAC e da Fundação Portuguesa para a Ciência e Tecnologia (FCT/MCTES), através dos projetos ELAC2014/BEE0367 e IF/01016/2014 e, através da bolsa SFRH/BPD/93407/2013. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo LAQV-REQUIMTE, financiado por fundos nacionais da FCT/MCTES (UID/QUI/50006/2013) e co-financiado pelo ERDF no âmbito do Acordo da Parceria PT2020 (POCI-01-0145-FEDER-007265).

RESUMO

O objetivo da presente dissertação consistiu na avaliação da produção de biogás e metano a partir da codigestão anaeróbia de hidrolisado de uma Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos (FORSU) e Carolo de Milho (CM), em condições termófilas.

O CM, inicialmente sem qualquer pré-tratamento, foi adicionado como co-substrato ao hidrolisado de FORSU (ensaio FORSU + Pre0). Posteriormente, o CM foi submetido a pré-tratamentos por via química, com diferentes concentrações de sólidos: 2% (ensaio FORSU + Pre1) e 10% (ensaio FORSU + Pre2).

Os pré-tratamentos do CM compreenderam um processo mecânico e processos químicos, com o objetivo de se aumentar a sua biodegradabilidade. O pré-tratamento mecânico consistiu na redução granulométrica para um tamanho de partículas ≤ 1 mm. O pré-tratamento químico consistiu na oxidação com H_2O_2 , à temperatura ambiente.

O tratamento oxidativo Pre1 ($H_2O_2/0,5/2\%$ CM/pH9,8/4h/23°C) foi o que apresentou os melhores resultados em termos de remoção de celulose (11,3%), mas sem remoção da hemicelulose e lenhina. Por sua vez, o pré-tratamento oxidativo Pre2 ($H_2O_2/0,5/10\%$ CM/pH9,8/4h/23°C) apresentou os melhores resultados em termos de solubilização de açúcares (654 mg frutose/L e 751 mg glucose/L), e de remoção de lenhina e hemicelulose (5,7 e 5,6%, respectivamente).

As concentrações mais elevadas de compostos fenólicos foram obtidas no ensaio Pre2, nomeadamente para os ácidos cafeico e p-cumárico (3,75 mg/L e 5,30 mg/L, respectivamente). O pré-tratamento Pre2 apresentou uma maior produção de compostos fenólicos do que o pré-tratamento Pre1.

A codigestão anaeróbia do hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado permitiu aumentar os rendimentos em biogás e CH_4 . Os melhores resultados foram obtidos no ensaio de FORSU + Pre2, com 1012 $L_{\text{biogás}}/\text{kg } SV_{\text{aplicados}}$ e 635 $L_{\text{metano}}/\text{kg } SV_{\text{aplicados}}$.

Palavras-chave: Carolo de milho; Codigestão anaeróbia; Fração orgânica de resíduos sólidos urbanos; Pré-tratamento

ABSTRACT

The aim of the present MSc dissertation was to evaluate biogas and methane productions from the anaerobic codigestion of a hydrolysed Organic Fraction of Municipal Solid Wastes (OFMSW) and Maize Cob (MC), under thermophilic conditions.

MC, initially without any pretreatment was added as co-substrate to the hydrolysed OFMSW (assay OFMSW + Pre0). Subsequently, MC was subjected to chemical pre-treatments with different solid concentrations: 2% (assay OFMSW + Pre1) and 10% (assay OFMSW + Pre2).

The MC pre-treatments comprised mechanical and chemical processes, aiming to increase its biodegradability. The mechanical pre-treatment consisted in the granulometry reduction to a particle size ≤ 1 mm. The chemical pre-treatments consisted in the oxidation with H_2O_2 , at room temperature.

The oxidative pre-treatment Pre1 ($H_2O_2/0.5/2\%MC/pH9.8/4h/23^\circ C$) presented the best results in terms of cellulose removal (11.3%), but without any removal of hemicellulose and lignin. On the other hand, the oxidative pre-treatment Pre2 ($H_2O_2/0.5/10\%MC/pH9.8/4h/23^\circ C$) presented the best results in terms of sugars' solubilization (654 mg fructose/L and 751 mg glucose/L), and removal of lignin and hemicellulose (5.7 and 5.6%, respectively).

The highest concentrations of phenolic compounds were obtained in Pre2 assay, namely for caffeic and cumaric acids (3.75 mg/L and 5.30 mg/L, respectively). Pre-treatment Pre2 presented a greater production of phenolic compounds than pre-treatment Pre1.

The anaerobic codigestion of hydrolysed OFMSW + pre-treated MC allowed increasing biogas and CH_4 yields. The best results were obtained in the assay OFMSW + Pre2, with 1012 $L_{biogas}/kg VS_{applied}$ and 635 $L_{methane}/kg VS_{applied}$.

Keywords: Anaerobic co-digestion; Maize Cob; Organic fraction of municipal solid wastes; Pre-treatments

ÍNDICE DE MATÉRIAS

1	ENQUADRAMENTO	1
2	INTRODUÇÃO	3
2.1	Objetivos e carácter inovador da presente dissertação	5
2.2	Cultura do milho.....	6
2.2.1	Importância do milho no Mundo, na Europa e Portugal	6
2.2.2	Resíduos produzidos na cultura do milho	6
2.3	Pré-tratamentos de materiais celulósicos	7
2.3.1	Pré-tratamentos Físicos	8
2.3.2	Pré-tratamentos Químicos Alcalinos.....	9
2.3.3	Pré-tratamentos Oxidativos	10
2.4	Digestão Anaeróbia	12
2.4.1	Etapas da DA.....	13
2.4.2	Fatores que influenciam a DA.....	14
2.4.2.1	Temperatura	14
2.4.2.2	pH.....	15
2.4.2.3	Tempo de Retenção Hidráulico (TRH)	15
2.4.2.4	Carga Orgânica.....	16
2.4.2.5	Macro e Micronutrientes	16
2.4.2.6	Agitação	17
2.4.2.7	Potencial Redox.....	17
2.4.2.8	Inibição por Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs).....	18
2.4.2.9	Inibição por Amónia.....	19
2.5	Biogás e sua Valorização Energética	20
3	MATERIAS E MÉTODOS.....	25
3.1	Substratos Orgânicos utilizados como matérias-primas.....	25
3.1.1	Tipos e proveniências.....	25
3.1.2	Caracterização das matérias-primas	26

3.1.3	Determinação dos teores de sólidos ST e SV	27
3.1.4	Determinação da Carência Química de Oxigénio total (CQOt) e dissolvida (CQOs) 28	
3.1.5	Determinação dos teores de Azoto Kjeldahl, Amoniacal e Orgânico	29
3.1.6	Determinação do Fósforo total	30
3.1.7	Determinação da concentração de Ácidos Orgânicos Voláteis e Análise Elementar 32	
3.2	Pré-tratamento do Carolo de Milho (CM)	32
3.2.1	Determinação da fibra total	33
3.2.2	Determinação da concentração de compostos inibidores e açúcares	36
3.3	Unidade Laboratorial de Digestão Anaeróbia e Condições de Operação	36
3.4	Ensaio de coDigestão Anaeróbia (coDA)	40
3.4.1	Alimentação do Digestor Anaeróbio	40
3.4.2	Parâmetros da Caracterização	41
3.4.3	Análise quantitativa e qualitativa de biogás	41
3.4.4	Cargas aplicadas, eficiência de remoção e rendimentos de produção	41
3.5	Análise estatística	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1	Pré-tratamentos do CM	45
4.2	Cargas orgânicas aplicadas ao digestor anaeróbio	47
4.3	Parâmetros de controlo	48
4.4	Caracterização dos afluentes e efluentes	49
4.4.1	Análise elementar	49
4.4.2	ST e SV	50
4.4.3	CQOt e CQOs	52
4.4.4	N-Kjeldahl, N-NH ₄ e N-O	54
4.4.5	Fósforo total	56
4.4.6	AOVs	56
4.4.7	Análise quantitativa e qualitativa do biogás	59
4.4.8	Rendimentos de produção de biogás e CH ₄ relativamente à carga de SV	61

5	CONCLUSÃO	65
6	SUGESTOES DE TRABALHO FUTURO	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Etapas da Digestão anaeróbia.	12
Figura 2.2 – Taxas de crescimento das bactérias metanogénicas nos regimes psicrófilo, mesófilo e termófilo.	15
Figura 2.3 – Taxa de degradação de diferentes substratos e produção de biogás em função do TRH 16	16
Figura 2.4 – Percentagem de amónia livre para diferentes temperaturas de DA com variação do pH..... 20	20
Figura 3.1 – FORSU proveniente do tanque de hidrólise da ETVO, Valorsul. 25	25
Figura 3.2 – Trituração do CM num moinho marca Retsch Sigma SM 300, com granulometria final de ≤ 1 mm. 26	26
Figura 3.3 – Exemplo da reta de quantificação de Fósforo do ensaio de FORSU + Pre1..... 31	31
Figura 3.4 – Fermentador New Brunswick Scientific, modelo BIOFLO 1000. (1) Vaso de fermentação com cinta de aquecimento e poliéster de isolamento; (2) Tubagem de entrada do afluente; (3) Tubagem de saída do efluente; (4) Bomba peristáltica para remoção do efluente; (5) Sistema de agitação com motor externo, eixo de transmissão e pás no interior do fermentador (pás não visíveis na imagem); (6) Tubagem de saída do biogás com condensador de vapores..... 37	37
Figura 3.5 – Sistema de armazenamento de biogás. (1) Tubo de condução do biogás do digestor para as colunas; (C1 e C2) Colunas de acrílico..... 38	38
Figura 3.6 – Armazenamento do biogás em sacos: (1) Tubo de condução de biogás do digestor para os sacos; (2) Sacos de 10 L (SKC, Tedlar Sample Bag). 39	39
Figura 3.7 – Esquema da unidade laboratorial de digestão anaeróbia. Acrónimos: D – Digestor; PAB# - Ponto de amostragem de Biogás; C# - Colunas de água..... 39	39
Figura 4.1 – Concentração de compostos fenólicos na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados. 45	45
Figura 4.2 – Concentração de açúcares na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados..... 46	46
Figura 4.3 – Percentagem de remoção de lenhina, celulose e hemicelulose nos pré-tratamentos do CM com H_2O_2 47	47
Figura 4.4 – Carga volúmica de SV aplicada ao digestor anaeróbio nos ensaios de coDA. 48	48
Figura 4.5 – Teores médios e desvios-padrão de ST, nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, nos ensaios coDA..... 50	50
Figura 4.6 – Teores médios e desvios-padrão de SV, nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, nos ensaios coDA..... 50	50
Figura 4.7 – Eficiências médias de remoção e respectivos desvios-padrão de ST e SV, nos ensaios coDA. 51	51

Figura 4.8 – Teores médios e desvios-padrão de CQOt, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, durante os ensaios de coDA.	52
Figura 4.9 – Teores médios e desvios-padrão de CQOs, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, durante os ensaios de coDA.	53
Figura 4.10 – Eficiências médias e desvio-padrão da remoção de CQOt e CQOs, nos ensaios de coDA.	54
Figura 4.11 – Teores médios e desvios-padrão de fósforo total nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, durante os ensaios coDA.	56
Figura 4.12 – Concentração de AOVs no afluente dos ensaios coDA.	57
Figura 4.13 – Concentração de AOVs no efluente dos ensaios coDA.	57
Figura 4.14 – Eficiência de remoção de AOVs entre os afluentes e efluentes dos ensaios coDA.	58
Figura 4.15 – Curvas de biogás acumulado nos ensaios de coDA.	59
Figura 4.16 - Curvas de CH ₄ acumulados nos ensaios de coDA.	60
Figura 4.17 – Percentagens médias e desvios-padrão de CH ₄ , CO ₂ e H ₂ S no biogás produzido nos ensaios de coDA.	60
Figura 4.18 – Rendimentos de produção de biogás e CH ₄ relativamente à carga de SV aplicada ao digestor anaeróbio, em função dos ensaios de coDA.	61

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 – Características químicas e conteúdo energético do carolo de milho.	7
Tabela 2.2 – Os principais grupos de microrganismos metanogénicos.....	14
Tabela 2.3 – Potencial redox nos diferentes tipos de respiração.	18
Tabela 2.4 – Limites de concentração de AOVs para diferentes níveis de estabilidade da DA..	19
Tabela 2.5 – Composição química do Biogás em comparação com o Gás Natural.	21
Tabela 2.6 – Poder calorífico de vários combustíveis e respetivas emissões de GEE expressas em CO ₂ equivalente.....	22
Tabela 3.1 – *Caracterização Química do hidrolisado de FORSU	26
Tabela 3.2 – Condições dos pré-tratamentos aplicados ao CM.....	33
Tabela 4.1 – Valores médios de temperatura, pH e potencial redox nos ensaios coDA.	48
Tabela 4.2 – Média e desvios-padrão da análise elementar ao afluyente dos ensaios coDA.	49
Tabela 4.3 – Razão CQOs/CQOt obtida nos diferentes ensaios	53
Tabela 4.4 – Concentrações médias de N-Kjeldahl, N-NH ₄ e N-O e percentagens de N-NH ₄ e N-O relativamente ao N-Kjeldahl obtidas nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio durante os ensaios de coDA.....	55
Tabela 4.5 – Rendimentos de produção de biogás e CH ₄ relativamente à carga de SV aplicada, obtidos em diferentes trabalhos de codigestão anaeróbia com resíduos de milho.	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOGIA

AOVs – Ácidos Orgânicos Voláteis

CM – Carolo de Milho

CQO – Carência Química de Oxigênio

coDA – Codigestão Anaeróbia

DA – Digestão Anaeróbia

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

ETVO – Estação de Tratamento e Valorização Orgânica

EUA – Estados Unidos da América

FER – Fonte de Energias Renováveis

FORSU – Fracção Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos

FORSU + Pre0 – hidrolisado de FORSU + carolo de milho sem pré-tratamento

FORSU + Pre1 – hidrolisado de FORSU + carolo de milho pré-tratado (2%)

FORSU + Pre2 – hidrolisado de FORSU + carolo de milho pré-tratado (10%)

GEE – Gases de Efeito de Estufa

GN – Gás Natural

PNAEE – Plano Nacional de Ação de Energias Renováveis

PTAN – Pressão e Temperatura Ambiente Normais

ST – Sólidos Totais

SV – Sólidos Voláteis

SF – Sólidos Fixos

TRH – Tempo de Retenção Hidráulico

UE – União Europeia

RSU – Resíduos Sólidos Urbanos

1 ENQUADRAMENTO

A presente dissertação insere-se no projeto ERA.NET-LAC ELAC2014/BEE0367, designado por “Bio-FESS” – “Biorefinery for the Production of Low- and High-Grade Activated Carbon from forestry wastes, maize residue and biogas digestate”, financiado pela União Europeia e pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia do Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior.

Este projeto é desenvolvido por um consórcio formado pela Universitat Hohenheim (Alemanha) (coordenador), pela FCT-UNL através da NOVA.ID.FCT (Portugal), pelo Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey (México) e pela Universidade de Los Andes (Colômbia).

A presente dissertação é a continuação do trabalho anterior de codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU e CM de Lancinha (2016) e insere-se no trabalho de doutoramento da doutoranda Elena Surra, tendo sido utilizados alguns dos seus resultados para poderem complementar os resultados contidos na presente dissertação.

2 INTRODUÇÃO

A exigência energética, bem como a sua importância e necessidade, tem vindo a aumentar ao longo dos anos com a crescente urbanização, desenvolvimento tecnológico e populacional. A necessidade de satisfazer estas condições promove a constante procura por uma energia limpa, sendo as energias renováveis uma solução aos combustíveis fósseis, responsáveis pelas elevadas emissões de gases de efeito de estufa (GEE) e alterações climáticas no planeta (Torney et al., 2007).

No âmbito do Roteiro das Energias Renováveis 2020, da União Europeia (UE), estão previstos objetivos no que diz respeito à redução da dependência das importações de combustíveis fósseis e de se promover a utilização de novas tecnologias energéticas. As metas estabelecidas pela Diretiva 2009/28/CE consistem em assegurar que todos os Estados Membros da UE, em 2020, contribuam com uma quota de 20% de energia renovável no consumo bruto final de energia e uma quota de 10% de energia renovável no sector dos transportes.

Desta forma, a bioenergia é uma das fontes de energias renováveis que deverá desempenhar um papel importante para atingir os objetivos pretendidos pela política energética da UE, através, por exemplo, da produção do biogás por digestão anaeróbia (DA) (Strzalka et al., 2017).

A DA é uma das tecnologias mais utilizadas e implementadas a nível mundial na gestão de biomassa e resíduos, uma vez que oferece a oportunidade de produzir um gás constituído essencialmente por metano (CH_4 em torno de 60% v/v) e dióxido de carbono (CO_2 em torno de 40% v/v), bem como um efluente rico em nutrientes (Samun et al., 2017). Por sua vez, o biogás produzido, quando melhorado a um ponto de apresentar uma constituição superior a 97% de CH_4 , pode ser utilizado como fonte de energia para a produção de calor, geração de energia elétrica e uso como combustível de veículos (Hakawati et al., 2017).

O biogás resulta da decomposição biológica da biomassa na ausência de oxigénio (O_2). Dois tipos de resíduos têm um elevado interesse em serem utilizados no processo de DA, devido à sua extensa abundância a nível mundial. Estes resíduos são a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU) e resíduos de milho (Ariunbaatar et al., 2014).

Os Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) representam um dos maiores problemas ambientais da atualidade, uma vez que a sua produção tem vindo a aumentar com o crescimento da população mundial (Akindele and Majid, 2018). Por sua vez, a FORSU resulta da separação mecânica da fração orgânica dos RSU, sendo constituída essencialmente por resíduos domésticos, provenientes de cantinas escolares, restaurantes, mercados, habitações particulares, entre outras origens.

Por outro lado, o excesso de resíduos produzidos a partir da cultura do milho, pode trazer consequências ambientais para a fertilização dos solos devido à reduzida biodegradação destes resíduos no solo.

O processo da DA, a partir de FORSU, é caracterizado por não possuir uma razão C/N adequada, devido ao seu elevado teor em azoto (Zarkadas et al., 2015). Por sua vez, a codigestão anaeróbia (coDA) de FORSU e resíduos agrícolas, permite otimizar a estabilidade e eficiência da DA, equilibrando assim a razão C/N, uma vez que os resíduos lenho-celulósicos são ricos em elevados teores de carbono (C), compensando assim o défice de carbono existente na FORSU (Samun et al., 2017).

Os resíduos do milho apresentam na sua constituição lenhina, celulose e hemicelulose, sendo importante que sejam submetidos a pré-tratamentos (físico, químico ou biológico), de modo a remover a lenhina e tornar acessível a hemicelulose e celulose para a sua conversão em biogás (Hendriks and Zeeman, 2009).

A presente dissertação apresenta o estudo da codigestão de hidrolisado de FORSU e resíduos da cultura do milho, nomeadamente o carolo do milho (CM).

2.1 Objetivos e carácter inovador da presente dissertação

A presente dissertação teve como objetivo estudar a coDigestão Anaeróbia (coDA), entre hidrolisado de FORSU e resíduos de CM. Estes últimos, foram submetidos a diferentes condições de pré-tratamentos. Sendo assim, procurou-se estudar e comparar os efeitos dos diferentes pré-tratamentos nos resíduos de CM, nomeadamente:

- Na solubilização de açúcares e produção de inibidores;
- Na quantidade e qualidade de biogás produzido na coDA de CM, pré-tratado, com hidrolisado de FORSU e coDA de CM, sem pré-tratamento, com hidrolisado de FORSU.

O carácter inovador da presente dissertação, consiste no estudo do efeito sinérgico dos resíduos de FORSU e CM na produção de biogás e CH₄ bem como a realização do trabalho em regime termófilo. O CM representa uma significativa porção dos resíduos do milho deixados no campo e devido às suas características físico-químicas torna-se necessário encontrar soluções viáveis para a sua valorização sustentável.

2.2 Cultura do milho

2.2.1 Importância do milho no Mundo, na Europa e Portugal

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie que pertence à família *Poaceae*. Apesar de ser nativa do Brasil, o milho tem como origem o México e a Guatemala. O milho é cultivado há mais de 8000 anos em muitas partes do Mundo (Estados Unidos da América, República Popular da China, Índia, Brasil, França, Indonésia, África, entre muitos outros países) e está entre as plantas de maior eficiência comercial (Barros and José, 2014).

A cultura do milho é das que ocupa maior área mundial na produção de cereais, aproximadamente 15% (Dhiman et al., 2017), sendo um alimento relacionado com a prática de atividades pecuárias, como a avicultura e suinicultura, onde o milho pode ser diretamente consumido pelos animais ou então utilizado para a produção de rações (Marchi 2008).

A nível mundial, os maiores produtores de milho, em 2016, foram os Estados Unidos da América (EUA) e a China, com produções anuais de 384 Mt e 232 Mt, respetivamente. A produção mundial do milho, em 2016, atingiu cerca de 1 milhar de milhão de toneladas, numa área de cultivo de 188 milhões de hectares (FAOSTAT, 2018).

Na Europa, os maiores produtores de milho, em 2016, foram a Ucrânia, Romênia, Rússia, Hungria e Itália, numa produção global que atingiu aproximadamente os 112 milhões de toneladas, numa área de cultivo de aproximadamente de 18 milhões de hectares (FAOSTAT, 2018).

Em Portugal, o milho é uma das culturas avenses mais importantes, sendo a que mais explorações agrícolas envolve. A cultura do milho, em Portugal, está associada à produção de silagem e grão, sendo uma cultura com enorme potencial de produção em regime de regadio e muito importante para as economias regionais e nacional (Barros and José, 2014). Em 2016, a produção de milho, em Portugal, foi de 710634 toneladas, numa área de cultivo de 88614 hectares (FAOSTAT, 2018).

2.2.2 Resíduos produzidos na cultura do milho

Durante a colheita do milho, vários resíduos como a palha do milho, as folhas, os caules e o carolo de milho (CM) são produzidos e geralmente deixados no campo, devido à sua importância orgânica e mineral para a fertilização dos solos (Avila-Segura et al., 2011). No entanto, estes resíduos, quando em excesso, provocam problemas tais como, desequilíbrio nutricional e excesso de carbono orgânico no solo (Tan et al. 2012).

Por sua vez, o CM representa uma das frações mais difíceis de biodegradar na palha do milho, sendo de particular interesse o seu aproveitamento. O Departamento de Energia, dos EUA, desenvolveu um projeto com o objetivo de se avaliar a viabilidade da produção de etanol celulósico, utilizando apenas CM. Segundo este trabalho, é mais económico transportar-se uma carga de resíduos de CM do que, os restantes resíduos resultantes da cultura do milho, uma vez

que o CM é mais denso que os restantes resíduos, apresentando uma estrutura e forma uniformes (Avila-Segura et al., 2011). Devido às suas características químicas (Tabela 2.1), o CM, pode ser utilizado para a produção de energia, de biocombustíveis de segunda geração e compostos químicos, tais como, furfurais, carvão ativado e xilitol (Kaliyan and Morey, 2010).

Tabela 2.1 – Características químicas e conteúdo energético do carolo de milho (Kaliyan e Morey 2010).

Parâmetro (matéria seca)	Concentração e valor energético
Humidade (%)	20–55
Sólidos Voláteis (%)	80,10
Cinzas (%)	1,36
C (%)	46,58
H (%)	5,87
O (%)	45,46
N (%)	0,47
S (%)	0,01
PCS (MJ / kg)	18,3–18,8

A disponibilidade de resíduos a partir da cultura do milho, a nível mundial, é de aproximadamente de 128-377 Mt, com um potencial energético de 5-60 EJ (Paudel et al., 2017). Por cada 100 kg de milho são produzidos aproximadamente 18 kg de CM (Torre et al., 2008).

Nos EUA, os resíduos da cultura do milho são uma das principais biomassas com maior interesse e potencial para a produção de etanol celulósico, uma vez que mais de 95% dos resíduos são deixados no campo (Avila-Segura et al., 2011). Se o valor económico dos resíduos do milho for assumido como tendo um custo zero e o custo da recolha de resíduos for igual ou um pouco superior a 33 euros, os agricultores, teriam um incentivo para armazenar os resíduos da produção de milho para a conversão em biocombustíveis (Erickson et al., 2011).

O carolo do milho é uma biomassa resistente à degradação biológica, sendo constituído essencialmente por celulose (32,3-45,6 % m/m), hemicelulose (39,8 % m/m) e lenhina (6,7-13,9 % m/m) (Nasr et al., 2014). A celulose é um polissacárido constituído por moléculas de glucose, que se encontram unidas por ligações glicosídicas β -1,4, enquanto que a hemicelulose é um polímero formado de pentoses, hexoses e ácidos urónicos e, por fim, a lenhina é constituída por heteropolímeros complexos de álcoois (Lee et al., 2017).

2.3 Pré-tratamentos de materiais celulósicos

O pré-tratamento da biomassa tem como objetivo quebrar a estrutura lenho-celulósica, permitindo assim a solubilização de açúcares fermentáveis a partir da hemicelulose e celulose, e a sua disponibilidade para o processo da hidrólise. Devido à complexidade e variabilidade das

estruturas químicas da biomassa lenho-celulósica, existem diversos pré-tratamentos com diferentes efeitos e rendimentos, sendo que a escolha do mais adequado, depende do tipo de biomassa selecionada. Estes podem ser classificados como físicos, químicos, biológicos e combinações destes diferentes tipos de pré-tratamentos (Neshat et al., 2017).

Cada pré-tratamento altera de forma diferente a estrutura da biomassa, nomeadamente: (i) a sua área superficial; (ii) a cristalinidade da celulose; (iii) solubilização da celulose e lenhina; (iv) alteração da estrutura da lenhina; (v) formação de furfurais. Porém, compostos inibidores, tais como: (i) ácidos fracos, respetivamente ácido acético, fórmico e levulínicos, (ii) derivados de furano e furfurais e (iii) compostos fenólicos, podem ser produzidos durante os diferentes tipos de pré-tratamentos e influenciam a atividade dos microrganismos na fase hidrolítica (Haghighi Mood et al., 2013).

Os resíduos celulósicos, como o CM, limitam o processo da DA, pelo facto de apresentarem na sua constituição lenhina, dificultando assim o acesso à celulose e hemicelulose por parte dos microrganismos anaeróbios. A moagem e extrusão, utilização de enzimas, compostagem, e tratamentos com utilização de microrganismos específicos, como por exemplo os fungos, são os pré-tratamentos mais comuns para biomassas que apresentam elevados teores de compostos lenho-celulósicos (Carrere et al., 2016).

O pré-tratamento ideal para a biomassa lenho-celulósica deve satisfazer aos seguintes requisitos: (i) tornar a celulose acessível; (ii) evitar a degradação da celulose e hemicelulose; (iii) evitar a formação de compostos que sejam inibidores para o processo de DA; (iv) minimizar o uso de energia; (v) gerar poucos resíduos; (vi) apresentar baixos custos de operação; (vii) utilizar reagentes químicos de baixo custo e quantidades reduzidas. O pré-tratamento da biomassa é essencial uma vez que a taxa de sucesso da hidrólise enzimática pode aumentar para 90% (Balat, 2011).

2.3.1 Pré-tratamentos Físicos

A finalidade dos pré-tratamentos físicos de biomassas lenho-celulósicas, consiste em reduzir a granulometria das partículas e a cristalinidade do material, de modo a aumentar a sua área superficial e melhorar a sua digestibilidade enzimática por parte das bactérias envolvidas na DA. Este pré-tratamento é essencial para um desempenho eficiente da DA, porque a redução da biomassa em partículas de menor dimensão aumenta a disponibilidade de substrato utilizado pelas bactérias hidrolíticas (Paudel et al., 2017).

Os pré-tratamentos físicos podem ser classificados em redução mecânica e micro-ondas, sendo que a sua escolha depende da biomassa utilizada e da granulometria final pretendida (Balat, 2011).

Segundo Amin et al. (2017), é possível obter-se um aumento na produção de biogás de 11% para 13% quando se reduz o tamanho das partículas de 33 mm para 6 mm. Paudel et al. (2017) verificaram um aumento da produção de CH₄ em 38,7%, quando reduziram o tamanho da palha de trigo para 0,75 mm. Por sua vez, Ren et al. (2017), obtiveram um aumento de 28% na produção de biogás, com uma redução do tamanho das partículas da palha de trigo de 0,843 mm para 0,391 mm.

O pré-tratamento físico é considerado o mais adequado para a produção de bioetanol e CH₄, uma vez que não existe a formação de compostos inibidores tais como furfurais e hidroximetilfurfurais, os quais podem inibir o processo da DA (Amin et al. 2017).

Porém, com o aumento sucessivo do custo da energia ao longo dos anos, estes pré-tratamentos apresentam desvantagens na sua utilização, tais como: (i) elevadas quantidades de energia requeridas e (ii) incapacidade de remover a lenhina (Amin et al., 2017). Por exemplo, para reduzir a granulometria da farinha de milho até a 1,6 mm é necessária uma quantidade de energia de 14 kWh (Balat, 2011).

2.3.2 Pré-tratamentos Químicos Alcalinos

Os pré-tratamentos alcalinos são métodos químicos amplamente estudados em materiais lenho-celulósicos. Nestes pré-tratamentos utilizam-se compostos químicos alcalinos, como por exemplo hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de potássio (KOH) e, hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂), sendo o NaOH a base mais estudada no tratamento de materiais lenho-celulósicos (Balat, 2011).

A finalidade dos pré-tratamentos alcalinos consiste na remoção da lenhina, grupo acetil e diferentes ácidos urónicos, facilitando assim a acessibilidade das enzimas hidrolíticas à hemicelulose e celulose (Haghighi Mood et al., 2013). O tratamento com NaOH causa a dilatação interna da estrutura celulósica e, conseqüente, o aumento da área superficial. Este aumento de volume reduz a interação que existe entre a lenhina e os glúcidos, causando o rompimento da estrutura da lenhina, a qual se torna solúvel nestas condições (Amin et al., 2017).

Estes pré-tratamentos são realizados a temperaturas e pressões baixas, sendo que os tempos de pré-tratamento variam entre horas e dias (Maurya et al., 2015). Por outro lado, a sua eficácia, depende do conteúdo de lenhina presente na biomassa (Amin et al., 2017).

Amin et al. (2017) obtiveram um aumento da produção de biogás de 220 mL/gVS com um pré-tratamento da palha do milho com 2% (m/m) de NaOH, durante 3 dias.

De acordo com Neshat et al. (2017), a palha do milho colocada em contacto com NaOH a 2% (m/m), à temperatura ambiente, durante 3 dias, permite obter uma diminuição do teor da lenhina de 8,4% para 7,5%.

O pré-tratamento com NaOH mostrou ser mais eficaz no aumento da área da superfície interna da celulose, na diminuição do seu grau de polimerização e cristalinidade, bem como na remoção de lenhina (Maurya et al., 2015).

Contudo, o pré-tratamento de biomassa lenho-celulósica com compostos alcalinos apresenta desvantagens, tais como: (i) elevado custo dos reagentes químicos e (ii) riscos ambientais associados ao uso de bases fortes (Hamelinck et al., 2005).

2.3.3 Pré-tratamentos Oxidativos

Os pré-tratamentos por oxidação consistem na adição de um agente oxidante, como o peróxido de hidrogénio ou ácido peracético, à biomassa suspensa em água; o H_2O_2 é o agente oxidante mais utilizado (Maurya et al., 2015). Estes pré-tratamentos têm como objetivo remover a lenhina, de modo a aumentar a acessibilidade à celulose e hemicelulose, por parte dos microrganismos anaeróbios (Hendriks and Zeeman, 2009).

Devido ao seu elevado custo, os pré-tratamentos oxidativos, são utilizados com outros pré-tratamentos, nomeadamente, os pré-tratamentos alcalinos, com o objetivo de remover a lenhina de materiais lenho-celulósicos (S. Sun et al., 2016).

A adição do NaOH ao H_2O_2 permite que a solução se torne num agente efetivo na remoção de lenhina e solubilização da hemicelulose. Isto é, em condições alcalinas (pH 11,5), o H_2O_2 torna-se instável, decompondo-se em radicais oxidantes fortes, hidroxilo (OH^\bullet) e superóxidos (O_2^\bullet), responsáveis pela remoção da lenhina (Dutra et al., 2017).

Segundo Gould (1985), a remoção máxima de lenhina com o pré-tratamento com H_2O_2 alcalino ocorre a um pH de 11,5, sendo que não existe qualquer diferença na remoção de lenhina com pH inferior a 10,0 ou superior a 12,5. Ainda de acordo com este autor, a concentração de H_2O_2 deve ser de apenas 1% e a razão massa H_2O_2 /massa biomassa deve ser de 0,25 g/g, de modo a obter-se um processo eficiente na remoção de lenhina.

R. C. Sun, Fang, e Tomkinson (2000), com um pré-tratamento de 2% (m/m) de H_2O_2 da palha de centeio, a um pH 11,5, durante 12 h, observaram que a remoção de lenhina e hemicelulose aumentava significativamente com o aumento da temperatura, obtendo-se a maior remoção a uma temperatura de 70 °C.

A partir de um pré-tratamento de 2% (m/m) de H_2O_2 , à temperatura de 30 °C, ocorre uma dissolução de lenhina de 50% e um aumento da hidrólise enzimática superior a 95% (Harmsen et al., 2010)

Correia et al. (2013) obtiveram um rendimento na hidrólise enzimática de 87% e uma remoção de lenhina de 80%, com um pré-tratamento da cana-de-açúcar, com 4,3% (m/m) de H_2O_2 , durante 24 h, à temperatura de 35 °C e uma concentração de sólidos de 5% (m/v).

C. Sun et al. (2015) estudaram o pré-tratamento alcalino com H_2O_2 de culturas monocotiledôneas e dicotiledôneas. Com um pré-tratamento de 2% (m/m) H_2O_2 , com um pH 11,5, temperatura a 35 °C e uma concentração de sólidos de 10% (m/v), obtiveram uma solubilização de glicose e xilose de 90% e 80%, respetivamente, e uma remoção de lenhina de 50% e 30-40%, respetivamente para as culturas monocotiledôneas e dicotiledôneas.

De acordo com Croce et al. (2016), um pré-tratamento alcalino com 2% (m/m) de H_2O_2 da palha do milho, durante 24 h, com um pH 11,5, à temperatura de 35 °C, é possível obter-se um aumento da produção de biogás de 171 m³.

Mittal et al. (2017) estudaram os pré-tratamentos alcalinos com H_2O_2 com diferentes razões H_2O_2 /biomassa na remoção de lenhina da palha do milho. Nas diferentes razões utilizadas (0,03; 0,06; 0,125; 0,250; 0,500 g H_2O_2 /g biomassa), com um pré-tratamento à temperatura de 50 °C, durante 3 h, verificaram que a maior remoção de lenhina ocorreu nas razões 0,25 e 0,5 g/g, respetivamente de 80% e 90%. A solubilização mais acentuada de açúcares ocorreu na razão 0,25, tendo sido de 90%.

De acordo com Sari e Budiyono (2014), uma concentração superior a 4% (m/m) de H_2O_2 inibe a fase metanogénica, devido ao excesso de iões hidroxilo que são tóxicos para as bactérias metanogénicas.

A eficácia do pré-tratamento da biomassa lenho-celulósica com H_2O_2 alcalino, varia consoante as seguintes variáveis: (i) concentração de sólidos no pré-tratamento; (ii) tempo de pré-tratamento; (iii) concentração de H_2O_2 no pré-tratamento; (iv) temperatura do pré-tratamento; (v) pH do pré-tratamento (Dutra et al., 2017).

A concentração de sólidos no pré-tratamento reflete a quantidade de biomassa pré-tratada ou o volume de reação de pré-tratamento. Um aumento da concentração de sólidos totais resulta numa maior solubilização de açúcares mas, uma elevada concentração de biomassa num baixo volume de pré-tratamento, aumenta a viscosidade da solução, dificultando, assim, o processo de mistura e um maior gasto de energia para a agitação da solução (Dutra et al., 2017).

A solubilização da hemicelulose e a remoção da lenhina a partir do pré-tratamento com H_2O_2 , depende fortemente do pH da solução. O pH da solução deve ser elevado o suficiente (11,5), de modo a garantir a dissociação do H_2O_2 , nos radicais hidróxilo (OH^\bullet) e superóxido (O_2^\bullet). A reação entre estes dois radicais é essencial porque permite um aumento da alcalinidade da solução, acelerando assim o processo de dissolução da lenhina e hemicelulose (Cong et al., 2015).

A temperatura no pré-tratamento com H_2O_2 , varia entre 25 a 70 °C, enquanto que, o seu efeito depende da biomassa lenho-celulósica utilizada. Um aumento da temperatura, conduz a uma maior solubilização da lenhina e hemicelulose na fração líquida (Dutra et al., 2017).

O H_2O_2 , tem um papel fundamental, na quebra da ligação do hidrogénio intracelular e intermolecular, da celulose e dos polissacarídeos. A sua concentração, deve variar entre 0-10 % (v/v), sendo que a maior solubilização, ocorre com elevadas concentrações de H_2O_2 (Cong et al., 2015).

2.4 Digestão Anaeróbia

A DA é um processo fermentativo da matéria orgânica na ausência de O_2 , que ocorre em quatro etapas (Fig. 2.1): Hidrólise, Acidogénese, Acetogénese e Metanogénese. Os produtos finais da DA consistem em biogás, constituído maioritariamente por CH_4 , CO_2 e outros gases em concentrações muito inferiores às destes dois gases, e um efluente (digerido), rico em nutrientes que pode ser utilizado como fertilizante (Vasco-Correa et al., 2017). O biogás produzido é uma fonte de energia renovável que pode ser utilizado para a produção de energia térmica, elétrica e como combustível para automóveis, quando sofre um processo de melhoramento para biometano ($CH_4 > 97\%$ v/v) (Arizzi et al., 2016). O processo da DA é complexo e são vários os parâmetros que influenciam o seu desempenho e a composição química do biogás, tais como: pH, temperatura, presença de inibidores (azoto e ácidos gordos voláteis), carga orgânica e tempo de retenção hidráulico (TRH) (Mirzoyan et al., 2010).

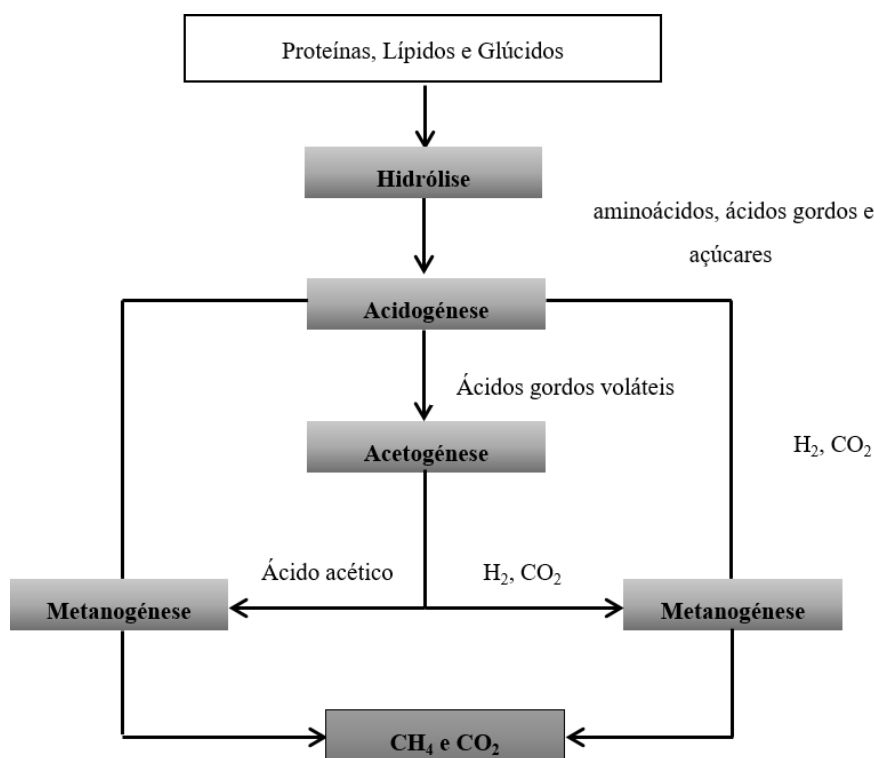


Figura 2.1 – Etapas da Digestão anaeróbia (adaptado de Sari e Budiyo 2014).

2.4.1 Etapas da DA

Como já foi referido anteriormente, o processo da DA ocorre em quatro fases (hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese), durante as quais ocorre a transformação da matéria orgânica biodegradável em biogás.

A **hidrólise** é a primeira etapa da DA, onde os compostos complexos, tais como proteínas, lípidos e glúcidos são convertidos em compostos mais simples como aminoácidos, ácidos orgânicos voláteis de cadeia longa e açúcares (Neshat et al., 2017). Nesta etapa, a degradação da matéria orgânica complexa é importante para facilitar a adsorção direta do substrato por parte dos microrganismos anaeróbios. A hidrólise torna-se limitante quando a matéria orgânica é constituída por lenhina, celulose e hemicelulose. Estes compostos insolúveis dificultam o processo das bactérias hidrolíticas, tornando assim o processo mais lento (Adekunle and Jude, 2015). Fatores como a granulometria do resíduo, pH, tempo de retenção hidráulico (TRH), temperatura e concentrações de compostos inibidores, afetam a velocidade e o grau de hidrólise da matéria orgânica (Chernicharo 2007).

Na **acidogénese**, os compostos provenientes da hidrólise sofrem um processo de fermentação por parte das bactérias acidogénicas/fermentativas, originando hidrogénio (H_2), CO_2 e ácidos gordos voláteis (AOVs), tais como ácido acético, propiónico, butírico e fórmico. Nesta etapa, a concentração de H_2 é um bom indicador de estabilidade e equilíbrio do sistema, uma vez que influencia a qualidade do produto final durante o processo de fermentação. A produção dos compostos essenciais para a produção de CH_4 diminui com o aumento da pressão parcial de H_2 (Adekunle and Jude, 2015). Segundo Drosig (2013), a concentração de H_2 deve ser inferior a 100 ppm, de modo a não inibir a produção de AOVs, principalmente o ácido acético, precursor essencial para a produção de CH_4 . O H_2 e o acetato produzidos nesta fase podem ser diretamente metabolizados pelas bactérias metanogénicas (Chernicharo 2007).

Na **acetogénese**, os compostos provenientes da fase da hidrólise e acidogénese são convertidos a ácido acético, H_2 e CO_2 , substratos essenciais para a produção de CH_4 , por ação das bactérias sintróficas e homoacetogénicas. Nesta fase, as conversões biológicas dos diferentes grupos de microrganismos dependem da concentração parcial de H_2 que se deve manter baixa (Adekunle and Jude, 2015).

Na última fase da DA, a **metanogénese**, os microrganismos metanogénicos, estritamente anaeróbios, são responsáveis pela produção de CH_4 , a partir dos produtos H_2 , CO_2 e acetato. Os microrganismos metanogénicos dividem-se em três grupos tróficos principais (Tabela 2.2): (i) as bactérias acetoclásticas, convertem o acetato em CH_4 e CO_2 ; (ii) as bactérias hidrogenotróficas, convertem o H_2 e CO_2 em CH_4 ; (iii) as bactérias metilotróficas convertem o metanol em CH_4 e água (H_2O) (Aslanzadeh, 2014).

Tabela 2.2 – Os principais grupos de microrganismos metanogénicos (Aslanzadeh 2014).

Bactérias	Reação
Metanogénicas Acetoclásticas	Acetato \rightarrow CH ₄ + CO ₂
Metanogénicas Hidrogenotróficas	H ₂ + CO ₂ \rightarrow CH ₄
Metanogénicas Metilotróficas	Metanol \rightarrow CH ₄ + H ₂ O

2.4.2 Fatores que influenciam a DA

A estabilidade do processo da DA não depende apenas da interação entre a comunidade biológica presente no digestor anaeróbio, mas também de outros fatores ambientais tais como temperatura, pH, razão C/N, TRH, carga orgânica e compostos inibidores (Neshat et al., 2017).

2.4.2.1 Temperatura

A temperatura é um dos parâmetros que mais influencia a estabilidade e o desempenho do processo da DA, uma vez que os microrganismos são bastantes sensíveis às variações de temperatura (Neshat et al., 2017). A DA é um processo que pode ocorrer em gamas de temperatura diferentes, tais como: gama termófila (45-65 °C), gama mesófila (25-45 °C) e gama psicrófila (10-25 °C) (Mirzoyan et al., 2010). A temperatura ótima para o desenvolvimento dos microrganismos termófilos situa-se nos 55 °C, enquanto que para as bactérias mesófilas encontra-se nos 35 °C (Matheri et al., 2017). Como se pode verificar na Figura 2.2, a DA é um processo mais eficiente em regime termófilo do que em regime mesófilo, porque a taxa de crescimento das bactérias metanogénicas é superior em temperaturas mais elevadas. Isto é, em regime termófilo, a taxa de conversão da carga orgânica afluente ao digestor é superior, permitindo assim uma maior produção de biogás. Porém, as bactérias termófilas são mais sensíveis aos seguintes parâmetros: (i) presença de inibidores, (ii) alteração do pH do meio, (iii) variação da carga orgânica aplicada ao digestor e (iv) alteração da temperatura, o que contribui globalmente para uma diminuição da estabilidade do processo de DA (Mao et al., 2015).

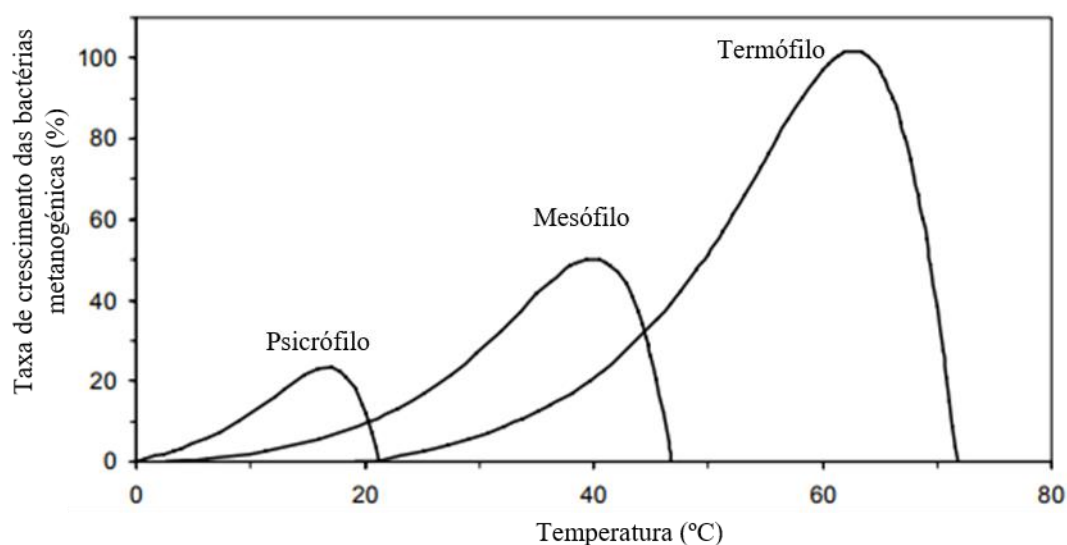


Figura 2.2 – Taxas de crescimento das bactérias metanogênicas nos regimes psicrófilo, mesófilo e termófilo (Sch 2009).

2.4.2.2 pH

O pH está relacionado com o caráter ácido e alcalino do meio em que o consórcio de bactérias funciona. Sendo assim, para se conseguir um processo estável na produção de biogás, é necessário manter-se o pH global num intervalo ótimo entre 7 e 8. A etapa da acidogênese prevalece quando o valor de pH se encontra abaixo do intervalo ótimo, contribuindo assim com uma maior produção de AOVs e consequente inibição da fase metanogênica (Raposo et al., 2011). A DA apresenta diferentes valores de pH ótimos para as diferentes etapas. As bactérias hidrolíticas e acidogênicas apresentam um pH ótimo entre os 5,5 e 6,5 (Khalid et al., 2011). O intervalo ótimo de pH indicado anteriormente corresponde ao intervalo ótimo para o desenvolvimento das bactérias metanogênicas (Khalid et al., 2011), uma vez que a sua atividade é inibida quando o pH é inferior a 5,5 (Mao et al., 2015).

2.4.2.3 Tempo de Retenção Hidráulico (TRH)

O TRH consiste no tempo médio em que a matéria orgânica fica retida no interior do digestor anaeróbio. O TRH a ser selecionado no funcionamento de um digestor anaeróbio é influenciado por fatores tais como: (i) temperatura selecionada, (ii) tipo de substrato e (iii) tipo de sistema utilizado no processo da DA. Para o regime mesófilo, o TRH varia habitualmente entre 15-40 dias, enquanto que para o regime termófilo, o THR varia entre 12-14 dias (Matheri et al., 2017). Como se pode observar pela Figura 2.3, quanto mais complexa for a matéria orgânica a ser degradada, maior deverá ser o TRH. Por sua vez, à medida que o TRH aumenta, a taxa de produção de biogás diminui, bem como a velocidade das reações metabólicas (Sch, 2009).

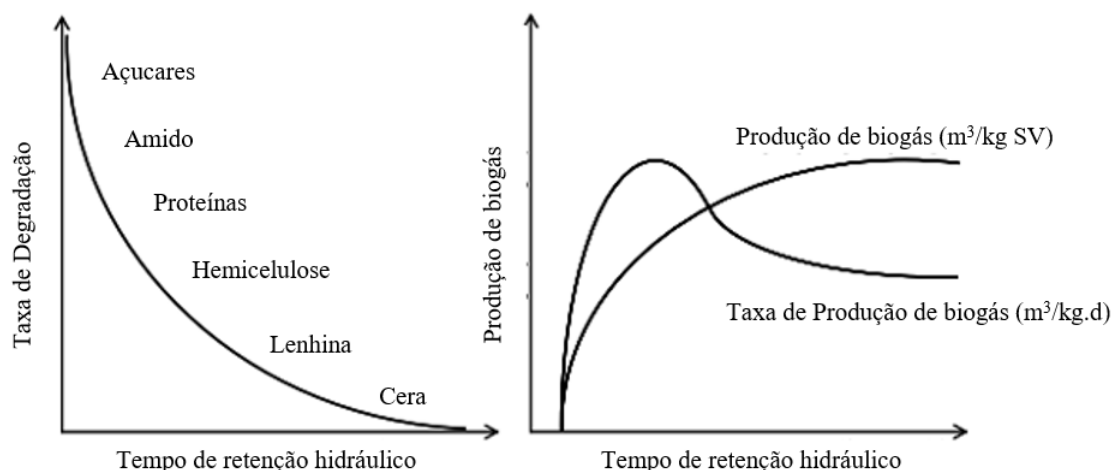


Figura 2.3 – Taxa de degradação de diferentes substratos e produção de biogás em função do TRH (Sch 2009).

O cálculo do TRH, em sistemas sem recirculação de lamas, pode ser calculado pela equação 2.1 (Neshat et al., 2017):

$$TRH = \frac{V}{Q} \quad (2.1)$$

Onde,

TRH – Tempo de retenção hidráulico (d);

V – Volume do digestor (m³);

Q – Caudal do afluente ao digestor (m³/d).

O TRH é um dos parâmetros mais importantes na operação de um digestor anaeróbio, porque afeta a taxa de produção de CH₄ e a conversão de sólidos voláteis em produtos gasosos (Gerardi, 2003).

2.4.2.4 Carga Orgânica

A carga orgânica está relacionada com a quantidade de sólidos voláteis alimentados a um digestor, por unidade de volume, por unidade de tempo. Uma elevada carga orgânica pode prejudicar a estabilidade do processo da DA, uma vez que existe uma maior atividade das bactérias hidrolíticas e acidogénicas, resultando numa maior produção de AOVs e, conseqüente, na acidificação do meio bacteriano, inibindo assim a fase metanogénica (Neshat et al., 2017). Segundo Baweja, Baredar, e Lal (2018), a quantidade de carga orgânica utilizada varia consoante os diferentes digestores, sendo que se deve situar entre os 2,4-2,51 g SV/(L.dia).

2.4.2.5 Macro e Micronutrientes

A matéria orgânica utilizada no processo da DA, deve conter os nutrientes, macro e micronutrientes, necessários para satisfazer o desenvolvimento dos microrganismos anaeróbios

(Weiland, 2010). Os macronutrientes de maior importância no processo da DA são o carbono (C), azoto (N_2), fósforo (P) e enxofre (S) (Raposo et al., 2011). O azoto é essencial para síntese de proteínas, enquanto que o carbono funciona como fonte de energia e como elemento para a síntese de inúmeras estruturas celulares (Matheri et al., 2017). Por outro lado, os micronutrientes, como Fe, Ni, Mo, Co, Se e Cu também são essenciais para o seu desenvolvimento porque são necessários para atividade enzimática (Weiland, 2010).

A razão C/N é um parâmetro de estabilidade muito importante, porque permite avaliar se algum destes macronutrientes é limitante durante o processo da DA. Segundo a literatura, uma razão C/N entre 20/1 a 30/1 é considerada como ótima para se obter um processo estável na DA (Li et al., 2011). Substratos com elevada razão C/N indicam, deficiência em azoto, colocando em causa o desenvolvimento microbiano, devido à dificuldade de produção de proteínas e consequente redução da produção de biogás. Por outro lado, uma razão C/N baixa limita o crescimento bacteriano por falta de carbono, promovendo assim a produção de amónia e acumulação de AOV, inibindo assim a atividade das bactérias metanogénicas (Neshat et al., 2017). Para além do C e do N, pode-se também considerar os nutrientes P e S. A razão ótima C/N/P/S de 600/15/5/1 é suficiente para se obter um processo estável na DA (Weiland, 2010).

A codigestão anaeróbia é uma boa solução para se equilibrar a razão C/N, quando os substratos orgânicos, a serem submetidos à DA, não apresentam os valores aconselhados pela literatura. A FORSU é um substrato que se caracteriza por uma razão C/N baixa (Zarkadas et al., 2015). Assim, a codigestão anaeróbia de FORSU com resíduos ricos em C apresenta vantagens, tais como: (i) estabilização da razão C/N, (ii) aumento da produção de CH_4 , (iii) diminuição da concentração de compostos inibidores (Ren et al., 2017).

2.4.2.6 Agitação

A agitação do digestor anaeróbio deve ser realizada de forma lenta e suave, de modo a permitir uma homogeneização da temperatura e melhorar o contacto entre os microrganismos e a matéria orgânica no interior digestor. Uma agitação demasiada rápida provoca distúrbios no meio bacteriano e consequentemente uma redução da produção de biogás (Ward et al., 2008).

Para além disso, a agitação é essencial para evitar a formação de lamas no fundo do reator, que diminuem o volume útil do digestor, e camadas de espuma superficiais, que dificultam a libertação do biogás (Appels et al., 2008).

2.4.2.7 Potencial Redox

O potencial redox está relacionado com a capacidade que uma molécula, ou um meio de cultura, tem em receber ou doar eletrões. Para os microrganismos metanogénicos, o potencial redox ótimo deve ser inferior a -300 mV (Gerardi, 2003).

Segundo Gerardi (2003), a partir do valor do potencial redox é possível identificar-se quais são os tipos de reações que ocorrem no interior do digestor anaeróbio (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 – Potencial redox nos diferentes tipos de respiração (Gerardi 2003).

Tipo de Respiração	Recetor final de eletrões	Eh (mV)
Aeróbia	O ₂	> 50
Anaeróbia	NO ₃ ⁻	+50 a -50
Anaeróbia com fermentação de ácidos ou álcoois	CH ₂ O	< -100
Anaeróbia com produção de metano	CO ₂ (ou carbonatos)	< -300
Anaeróbia com redução do sulfato	SO ₄ ²⁻	< -400

2.4.2.8 Inibição por Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs)

Os AOVs são produtos resultantes da fase fermentativa do processo da DA a partir dos compostos provenientes da hidrólise. Estes ácidos, tais como ácido acético, fórmico, butírico e propiónico, são precursores importantes para a produção do CH₄ (Neshat et al., 2017). No entanto, quando a atividade das bactérias homoacetogénicas é superior à atividade das bactérias metanogénicas, ocorre uma acumulação de AOVs no meio bacteriano, uma vez que a taxa de utilização de acetato, por parte das bactérias metanogénicas, é inferior à taxa de produção de acetato pelas bactérias homoacetogénicas (Ward et al., 2008). Os AOVs tornam-se tóxicos para os microrganismos em elevadas concentrações, uma vez que têm a capacidade de atravessar a membrana celular das bactérias, causando uma descida do pH intracelular e uma redução no seu processo metabólico. Os AOVs são indicadores de estabilidade e desempenho do processo da DA, porque uma razão de ácido propiónico e ácido acético superior a 1,4, indica uma possível falha no processo da DA (Xie et al., 2016). Segundo Drosch (2013), concentrações de ácido acético, propiónico e butírico superiores a 4000 mg/L, 1000 mg/L e 50 mg/L, respetivamente, indicam elevada probabilidade de instabilidade no sistema (Tabela 2.4).

Tabela 2.4 – Limites de concentração de AOVs para diferentes níveis de estabilidade da DA (Drosg, 2013).

AOV	Concentração	Interpretação
	<1000 mg/L	Processo estável
Ácido acético	1000 – 4000 mg/L	Início de instabilidade
	>4000 mg/L	Elevada probabilidade de instabilidade
	<250 mg/L	Processo estável
Ácido propiónico	250 -1000 mg/L	Início de instabilidade
	>1000 mg/L	Elevada probabilidade de instabilidade
	<50 mg/L	Processo estável
Ácido butírico	≥50 mg/L	Acumulação deste AOV provoca graves problemas de instabilidade

2.4.2.9 Inibição por Amónia

A amónia resulta da degradação da matéria orgânica azotada, sendo que aparece sob a forma de amónia livre (NH_3) e ião amónio (NH_4^+) no líquido em digestão (Chen et al., 2008). É um macronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento metabólico dos microrganismos, mas em elevadas concentrações inibe a fase metanogénica, provocando uma acumulação de AOV, com a consequente diminuição da produção de CH_4 (Shi et al., 2017). A amónia na forma livre (NH_3), é mais tóxica para as bactérias metanogénicas do que o ião amónio (NH_4^+), visto que têm a capacidade de penetrar na célula através da membrana celular, originando numa redução do pH interno e uma deficiência em potássio (K) (Xie et al., 2016).

Segundo McCarty (1964), a partir de concentrações superiores a 1500 mg/L e para valores de pH alcalinos, a amónia torna-se inibidora dos microrganismos que participam na DA. Concentrações superiores a 3000 mg/L, causam toxicidade irreversível dos microrganismos anaeróbios.

Akindele e Sartaj (2018) estudaram o efeito da amónia em diferentes concentrações (respetivamente 2500, 5000, 7500 e 10000 mg/L), para diferentes valores de pH (7,5 ; 8,0 ; 8,5), no processo da DA com FORSU. Estes autores observaram que com uma concentração total de amónia de 2500 mg/L, a produção acumulada de biogás foi reduzida em 10% em todos os valores de pH. Para uma concentração de 10000 mg/L, a produção acumulada de biogás sofreu uma redução superior a 80%, para todos os valores de pH.

Como se pode observar na Figura 2.4, para qualquer temperatura a que a DA ocorre, existe um aumento da amónia livre no processo da digestão anaeróbia com o aumento do pH. O aumento da amónia livre ocorre mais cedo nos processos com temperaturas mais elevadas (regimes mesófilos e termófilos).

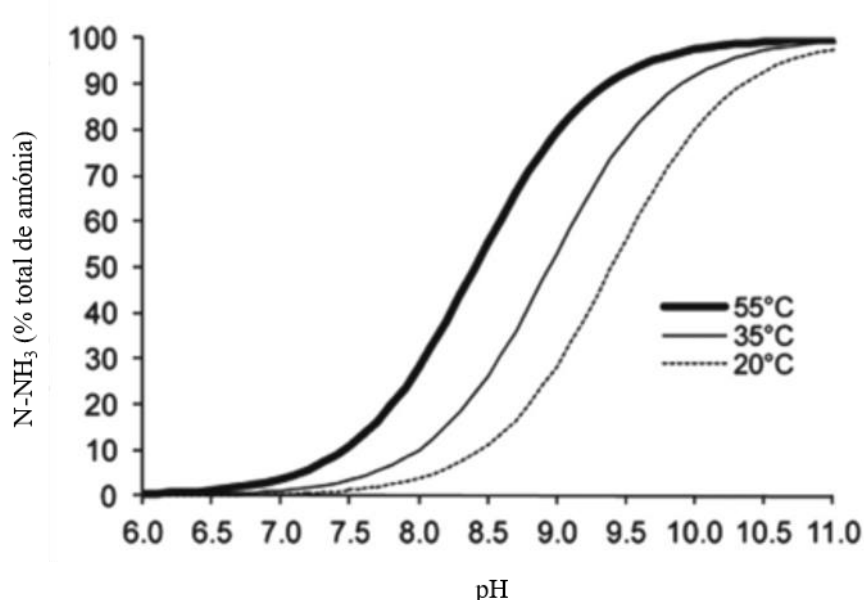


Figura 2.4 – Percentagem de amónia livre para diferentes temperaturas de DA com variação do pH (Rajagopal, Massé, e Singh 2013).

Os limites de tolerância para a quantidade total de amónia, para a fase metanogénica, variam consoante as condições ambientais (pH e temperatura), o tipo de substrato e inóculo utilizados no processo e diferentes períodos de aclimação (Zhang et al., 2014). Substratos ricos em proteínas, como estrume de animal, FORSU e águas residuais, produzem elevados teores de amónia durante a sua digestão que em elevadas concentrações acidificam o pH do meio anaeróbio, provocando uma degradação inadequada da matéria orgânica e consequente redução da produção de CH_4 (Rajagopal et al., 2013).

2.5 Biogás e sua Valorização Energética

O biogás é uma mistura gasosa combustível, resultante da decomposição da matéria orgânica, na ausência de O_2 , por consórcios de bactérias facultativas e anaeróbias. A sua composição química varia com o tipo de biomassa e com os vários parâmetros de operação utilizados no processo da DA (Weiland, 2010). O biogás é constituído essencialmente por CH_4 , CO_2 e, por outros gases em concentrações mais baixas, tais como hidrogénio (H_2), azoto (N_2), monóxido de carbono (CO) e sulfureto de hidrogénio (H_2S) (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 – Composição química do Biogás em comparação com o Gás Natural (Kadam e Panwar 2017).

Constituição (% v/v)	Biogás	Gás natural
CH ₄	40-75	87-97
CO ₂	25-55	0,1-1
H ₂ S	50-5000	N/D
NH ₄	0-1	N/D
H ₂ O	0-10	N/D
N ₂	0-5	0,2-5,5
O ₂	0-2	0,01-0,1
H ₂	0-1	0,02

N/D: Não Detetado

No biogás, quanto maior for a concentração de CH₄ em relação aos outros constituintes, maior interesse terá este recurso energético (Gerardi, 2003). No entanto, para se obter biometano é necessário que o biogás seja sujeito a um processo de “up-grading”, de modo a remover-se o CO₂. O teor de CH₄, após “up-grading”, aumenta para 95-97% (v/v) (Matheri et al., 2017).

O biogás poderá também ter que ser submetido a um tratamento de remoção de H₂S, uma vez que na presença de vapor de água, forma-se o ácido sulfúrico (H₂SO₄). Este ácido é extremamente perigoso e corrosivo para motores convencionais, compressores e outros materiais mecânicos (Neshat et al., 2017).

O biogás pode ser utilizado diretamente na produção de energia elétrica e energia térmica ou, tal como se referiu acima, ser submetido a um processo de “up-grading” por forma a ser utilizado como combustível gasoso no setor dos transportes, ou ser injetado na rede de gás natural. As vantagens associadas à produção de biogás como fonte de energia renovável são as seguintes: (i) biocombustível de alta qualidade, com um poder calorífico próximo do valor de gás natural após “up-grading” (Tabela 2.6); (ii) redução da emissão de CH₄ a partir de aterros sanitários; (iii) redução de resíduos; (iv) aproveitamento do efluente resultante da DA como fertilizante, reduzindo assim o uso de fertilizantes minerais (Vasco-Correa et al., 2017).

Tabela 2.6 – Poder calorífico de vários combustíveis e respetivas emissões de GEE expressas em CO₂ equivalente (adaptado Abbasi, Tauseef, e Abbasi 2012).

Combustível	PCI (kWh/kg)	Fator de emissão (kg CO ₂ -eq/GJ, base PCI)
Petróleo	12,6	12,51
Gás Natural	10,0	5,55
GN liquefeito	15,3	20,00
Querosene	12,0	13,34
Diesel	12,4	14,13
GN comprimido	10,0	8,36
Biogás	5,8	0,25

Na UE, em 2016, a produção de energia primária e elétrica, obtidas a partir de biogás, foram de 16,1 Mtep e 62,5 TWh, respetivamente (Euroserver, 2018). Por sua vez, 77% do total de biogás produzido na UE, em 2016, esteve concentrado em três países, com a Alemanha a destacar-se como o maior produtor de biogás com 7,956 Mtep, seguida do Reino Unido com 2,406 Mtep e Itália com 2,029 Mtep (Euroserver, 2018).

A produção de biogás a partir da DA pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento do mercado de energia renovável, face à crescente preocupação com problemas ambientais, relacionados com as elevadas emissões de GEE a partir da utilização de combustíveis fósseis. Estima-se que, em 2020, a energia primária obtida a partir da produção de biogás, na UE, seja de 23 Mtep, com a consequente redução em 60% GEE, considerando-se de 2017 como ano de referência (Ullah Khan et al. 2017).

Em 2016, a produção de energia primária obtida através do biogás, em Portugal, foi de 0,080 Mtep, representando um decréscimo de 2,7% em relação ao ano de 2015, dado que a energia primária, obtida nesse ano a partir do biogás, foi de 0,083 Mtep (Euroserver, 2018). As principais áreas de produção de biogás, em Portugal, são as do sector agropecuário, da indústria agroalimentar, das Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) e dos Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) (Ferreira et al., 2012).

No entanto, apesar da ampla diversidade de resíduos provenientes de atividades como suiniculturas, aviculturas, bovinoculturas, efluentes orgânicos, FORSU, entre muitos outros, e apesar da implementação das novas tarifas “Feed – In”, a valorização do biogás em Portugal, encontra-se ainda numa fase prematura. Porém, a produção de biogás pode tornar-se numa fonte

de energia relevante para o desenvolvimento do país e para atingir os objetivos estimados pelo Plano Nacional de Ação para as Energias Renováveis 2020 (PNAER 2020) (Ferreira et al., 2017).

A produção de energia elétrica obtida a partir do biogás, em Portugal, em 2017, foi de 287 GWh (DGEG, 2018). Estima-se que, em 2020, este valor atinja os 413 GWh. É importante investir na implantação de centrais de biogás em Portugal, porque o potencial é elevado e encontra sub-explorado. Por outro lado, está prevista a instalação, até 2020, de uma potência de 60 MW, para a produção de energia elétrica a partir do biogás (PNAER 2020).

Por sua vez, a injeção de biometano, na rede de GN é regulada pelo Decreto-Lei nº 231/2012, de 26 de outubro ($\text{CH}_4 > 96\% \text{ v/v}$; $\text{CO}_2 < 2,5\% \text{ v/v}$; $\text{H}_2\text{S} < 3,3 \text{ ppmv}$; Stotal $< 33 \text{ ppmv}$) (ERSE, 2015). Este Decreto-Lei estabelece as regras gerais para o funcionamento e organização do Sistema Nacional de GN, bem como as bases gerais aplicáveis ao exercício das atividades de receção, armazenamento, transporte, distribuição e comercialização de GN e à organização dos mercados de GN.

Por fim, a remuneração dos produtores de energia elétrica a partir de fontes de energias renováveis (FER), é regulada pelo Decreto-Lei nº 225/2007 de 31 de maio. Este Decreto-Lei tem como objetivo abranger os custos evitados pelo sistema elétrico com a entrada em funcionamento de produtores em regime especial e pelos benefícios ambientais proporcionados pelo uso de fontes de energia renovável (FER).

3 MATERIAS E METÓDOS

3.1 Substratos Orgânicos utilizados como matérias-primas.

3.1.1 Tipos e proveniências

O digestor anaeróbio foi alimentado com um pré-hidrolisado da FORSU e CM. A FORSU (Fig. 3.1) era proveniente do tanque de hidrólise da Estação de Tratamento e Valorização Orgânica (ETVO) da empresa Valorsul, localizada no concelho de Amadora (Lisboa, Portugal). Os resíduos de FORSU são restos alimentares, provenientes de restaurantes, cantinas, mercados abastecedores, entre outras fontes. Estes resíduos são submetidos a processos de separação de materiais não biológicos, como sejam os plásticos, metais e vidro, antes de serem submetidos ao processo de hidrólise. A hidrólise ocorre por via biológica, através de bactérias acidogénicas, num tanque que se encontra à temperatura ambiente, com um TRH de 2 dias.



Figura 3.1 – FORSU proveniente do tanque de hidrólise da ETVO, Valorsul.

A recolha do hidrolisado de FORSU foi realizada em garrações de vidro (*Schott*) de 2 L, sendo transportado em malas térmicas com termoacumuladores, de modo a reduzir-se a sua degradação biológica. As amostras foram depois submetidas a um processo de crivagem, através de um crivo (marca Retsch) com uma malha de 1 mm, obtendo-se um substrato líquido contendo partículas com uma granulometria ≤ 1 mm. Após a sua crivagem, as amostras foram armazenadas à temperatura de 4 °C, em frascos de vidro, até ao seu uso. No entanto, para se garantir a estabilidade e um bom funcionamento do processo da DA, as amostras de hidrolisado de FORSU foram recolhidas com frequência trissemanal.

No presente trabalho, utilizou-se o hidrolisado de FORSU como substrato orgânico de base para os ensaios da coDA, tendo-se utilizado os parâmetros de funcionamento similares aos digestores metanogénicos da ETVO. Na tabela 3.1, apresenta-se a caracterização química do hidrolisado de FORSU, que já foi realizado num trabalho anterior de coDA (Lancinha, 2016).

Tabela 3.1 – *Caracterização Química do hidrolisado de FORSU (Lancinha, 2016)

Parâmetro	Valor
ST (% m/v)	$5,6 \pm 0,5$
SV (% m/v)	$4,5 \pm 0,3$
SF (% m/v)	$1,1 \pm 0,1$
CQOt (g O ₂ /L)	$87,7 \pm 4,4$
CQOs (g O ₂ /L)	$32,7 \pm 1,9$
N-Kjeldahl (g N/L)	$2,87 \pm 0,07$
N-NH ₄ (g N/L)	$1,50 \pm 0,09$
N-orgânico (g N/L)	$1,37 \pm 0,13$
P-total (mg P/L)	494 ± 75

O CM (Fig. 3.2), utilizado nos ensaios da coDA, foi colhido durante uma ceifa do milho numa quinta em Coruche (Ribatejo, Portugal). O CM foi triturado num moinho *Retsch Sigma SM 300* e peneirado através de um crivo com malha de dimensão ≤ 1 mm.

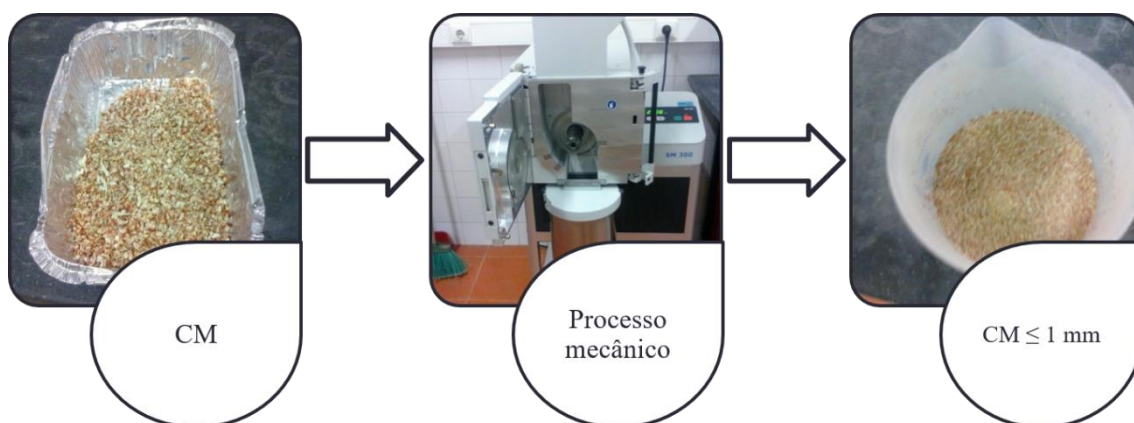


Figura 3.2 – Trituração do CM num moinho marca Retsch Sigma SM 300, com granulometria final de ≤ 1 mm.

3.1.2 Caracterização das matérias-primas

A caracterização da FORSU compreendeu a quantificação dos seguintes parâmetros: Sólidos totais (ST), Sólidos fixos (SF), Sólidos voláteis (SV), Carência Química de Oxigénio total (CQOt) e solúvel (CQOs), Azoto Kjeldahl (N-Kjeldahl), Azoto Amoniacal (NH₄-N) e Azoto Orgânico (por diferença entre o N-Kjeldahl e o NH₄-N), Fósforo total (P total), análise elementar (C, H, N, S) e ácidos orgânicos voláteis (ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico e ácido butírico).

O CM foi caracterizado relativamente os seguintes parâmetros: ST, SF, SV, N-Kjeldahl, P total, análise elementar (C, H, N, S) e conteúdo em fibras (lenhina, celulose e hemicelulose).

A caracterização química destas matérias-primas já foi realizada num trabalho anterior de coDA (Lancinha, 2016).

3.1.3 Determinação dos teores de sólidos ST e SV

Para a determinação dos ST e SV, procedeu-se à determinação da tara de cadinhos de porcelana, numa mufla micro-ondas (marca *CEM*, modelo, MAS 7000), a uma temperatura de 103 ± 2 °C e 550 ± 10 °C. Os cadinhos foram depois colocados em exsiccadores, com sílica-gel, para arrefecer em ambiente sem humidade, e mais tarde foram pesados numa balança analítica (*Denver Instrument Company*, modelo TR-204, precisão: $\pm 0,1$ mg). Estas determinações foram sempre realizadas em duplicados.

Na determinação dos ST, os cadinhos com 20 mL de amostra, previamente desidrata em banho de água, foram colocados a uma temperatura de 103 ± 2 °C numa mufla micro-ondas (marca *CEM*, modelo, MAS 7000). Após o arrefecimento dos cadinhos no exsiccador, a sua pesagem foi realizada numa balança analítica (*Denver Instrument Company*, modelo TR-204, precisão: $\pm 0,1$ mg), obtendo-se assim o seu peso da tara com a amostra seca a 103 ± 2 °C.

Para a determinação do teor de SV, levou-se os sólidos resultantes da secagem a 103 ± 2 °C (ST), a uma temperatura de 550 ± 10 °C, numa mufla micro-ondas (marca *CEM*, modelo, MAS 7000). Os cadinhos foram posteriormente pesados numa balança analítica (*Denver Instrument Company*, modelo TR-204, precisão: $\pm 0,1$ mg), obtendo-se assim o peso da tara com as cinzas a 550 ± 10 °C.

A quantificação dos ST e SV foi realizada de acordo com os métodos gravimétricos 2540B da APHA/AWWA/WPCF (2005) e 2540E da APHA/AWWA/WPCF (2005), respetivamente. Os ciclos de secagem ou volatilização foram repetidos até se obter um peso com uma variação inferior a 5% (m/m) em duas pesagens consecutivas.

Os teores de ST, SF e ST foram calculados pelas equações 3.1, 3.2 e 3.3, respetivamente:

$$ST = \frac{P_1 - P_2}{V_a} \times 1000 \quad (3.1)$$

Onde,

ST: Teor de Sólidos Totais (g/L);

P₀: Tara do cadinho a 103 ± 2 °C (g);

P₁: Tara do cadinho + amostra seca a 103 ± 2 °C (g);

V_a: Volume da amostra (mL).

1000: Fator de conversão de mL para L.

$$SF = \frac{P_3 - P_2}{V_a} \times 1000 \quad (3.2)$$

Onde,

SF: Teor de Sólidos Fixos (g/L);

P₂: Tara do cadinho a 550 ± 10 °C (g);

P₃: Tara do cadinho + cinzas a 550 ± 10 °C (g);

V_a: Volume amostra (mL).

1000: Fator de conversão de mL para L.

$$SV = ST - SF \quad (3.3)$$

Onde,

SV: Teor de Sólidos Voláteis (g/L);

ST: Teor de Sólidos Totais (g/L);

SF: Teor de Sólidos Fixos (g/L).

3.1.4 Determinação da Carência Química de Oxigénio total (CQOt) e dissolvida (CQOs)

A determinação da CQOt foi realizada pelo método volumétrico ISO 15705:2002. Diluíram-se as amostras dos afluente e efluente do biodigestor numa razão de 1:50. Para se efectuar a quantificação de CQOs, as amostras foram centrifugadas numa centrífuga refrigerada (marca Sigma, Modelo 4K15). A centrifugação ocorreu em dois ciclos consecutivos (1000 g, durante 20 minutos e 5000 g, durante 30 minutos), a uma temperatura de 20 °C, de modo a remover-se a maior quantidade de partículas sólidas em suspensão. As amostras foram depois diluídas na razão de 1:10, tanto o afluente como para o efluente.

A matéria orgânica e inorgânica presente nas amostras, foi oxidada por ação do dicromato de potássio (0.5 N) (*Panreac*), em meio ácido (15 mL de H₂SO₄ > 95% v/v) (*Fisher Scientific*), na presença de sulfato de mercúrio em pó (*Riede-de-Haën*) para a redução do efeito dos iões interferentes, como por exemplo os cloretos. A digestão ocorreu durante 60 minutos, a uma temperatura de 160 °C, num termo-reator Behr (Labor-Technick).

O excesso de dicromato de potássio presente em solução após reação de oxidação, foi titulado com uma solução sulfato ferroso amoniacal (0.5 N) (*Panreac*), na presença do indicador ferroína.

As concentrações de CQOt e CQOs foram calculadas pela equação 3.4:

$$CQO = \left(\frac{V_{t\text{-branco}} - V_{t\text{-amostra}}}{V_a} \times 8000 \times T \times F_d \right) \quad (3.4)$$

Onde,

CQO: Carência Química Oxigénio (mg O₂/L);

V_{t-branco}: Volume de titulante consumido no branco (mL);

V_{t-amostra}: Volume de titulante consumido na amostra (mL);

V_a: Volume de amostra (mL);

T: Título (N);

F_d: Fator de diluição;

8000: Fator de conversão de miliequivalente de Cr (VI) para massa de oxigénio, expressa em mg e de conversão do volume de mL para L.

3.1.5 Determinação dos teores de Azoto Kjeldahl, Amoniacal e Orgânico

Nas determinações dos teores de azoto, o azoto Kjeldahl (N-Kjeldahl) representa a soma das frações de azoto amoniacal (N-NH₄) e azoto orgânico (N-Orgânico) presentes nas amostras.

O azoto Kjeldahl foi determinado segundo o método ISO 5663:1984. As amostras com um volume de 1 mL para o afluente e 1,5 mL para o efluente, foram submetidas a uma digestão ácida, com ácido sulfúrico (H₂SO₄ > 95% v/v) (*Fisher Scientific*), na presença de uma mistura catalisadora de Zn. A digestão ocorreu a uma temperatura de 360 °C, tendo sido considerada como completada quando os digeridos ácidos se apresentavam translúcidos.

Os digeridos ácidos depois foram filtrados através de um filtro de fibra de vidro (*Schleicher & Schuell*, modelo GF/C), com uma porosidade inferior a 2 µm, para balões de 100 mL. Posteriormente, 10 mL de digerido ácido eram alcalinizados com NaOH (6N) (Panreac), na presença de fenolftaleína (pH > 8,2). O digerido alcalino era depois destilado num destilador *Tecator Kjeltex System 1002 Distilling Unit*, através de uma corrente de vapor. O condensado, rico em NH₃, era depois recolhido numa solução indicadora de ácido bórico. As soluções de ácido bórico, contendo iões NH₄⁺, eram depois tituladas com H₂SO₄ (0,02 N) (*Fisher Scientific*), até ocorrer nova alteração de cor de verde para roxo.

O N-NH₄ foi quantificado por um processo idêntico ao azoto Kjeldahl, com exceção do passo prévio de digestão ácida (H₂SO₄ > 95% v/v) (*Fisher Scientific*). Na quantificação do N-NH₄, foi utilizado um volume de 4 mL do afluente e do efluente.

A quantidade de N-Kjeldahl, N-NH₄, N-Orgânico foram calculados pelas equações 3.5, 3.6 e 3.7:

$$N\text{-Kjeldahl} = \frac{0,02 \times 14 \times V_t \times V_b}{V_a \times V_c} \times 1000 \quad (3.5)$$

Onde,

N-Kjeldahl: Azoto Kjeldahl (mg N/L);

V_t : Volume de titulante consumido na titulação da solução indicadora de ácido bórico (mL);

V_a : Volume de digerido ácido utilizado na destilação (mL);

V_b : Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

V_c : Volume de amostra inicial submetido à digestão ácida (mL);

0,02: Concentração do titulante;

14: Fator de conversão de massa de N-Kjeldahl em massa de N;

1000: Fator de conversão de mL para L.

$$N\text{-NH}_4 = \frac{V_t \times 280}{V_a} \quad (3.6)$$

Onde,

N-NH₄: Azoto Amoniacal (mg N/L);

V_t : Volume de titulante consumido na titulação da solução indicadora de ácido bórico (mL);

V_a : Volume de amostra submetida à destilação (mL);

280: Fator de conversão de massa de NH₄ em massa de N e de mL para L.

$$N\text{-Orgânico} = N\text{-Kjeldahl} - N\text{-NH}_4 \quad (3.7)$$

Onde,

N-Orgânico: Azoto orgânico (mg N/L);

N-Kjeldahl: Azoto Kjeldahl (mg N/L);

N-NH₄: Azoto Amoniacal (mg N/L).

3.1.6 Determinação do Fósforo total

A quantificação do fósforo total baseou-se no método ISO 6878:2004. Foram utilizadas as amostras provenientes da digestão ácida que foi realizada para a quantificação do N-Kjeldahl.

Preparou-se inicialmente uma solução redutora com um volume de 200 mL, contendo 100 mL de H₂SO₄ (5 N) (> 95% v/v) (*Fisher Scientific*), 30 mL molibato de amônio (0,032 mol/L) (*Riedel-*

de-Haën), 1,056 g ácido ascórbico (176,12 M) (*Fisher Chemical*), 10 mL de tartarato de potássio (0,0090 mol/L) (*Merck*). Foi preparada uma solução padrão de fósforo, num balão volumétrico de 100 mL, contendo 2 mL de solução *stock* de fosfato (50 µg P/mL). O volume das soluções foi completado com água ultrapura (*Milipore*, modelo Elix 10).

Construiu-se uma reta de calibração (Fig. 3.3) para cada ensaio de quantificação do fósforo constituída por sete padrões com concentrações de 0; 2,5; 5; 10; 15; 20 e 25 µg P/100 mL. Foram adicionados 8 mL de solução redutora a todos os padrões.

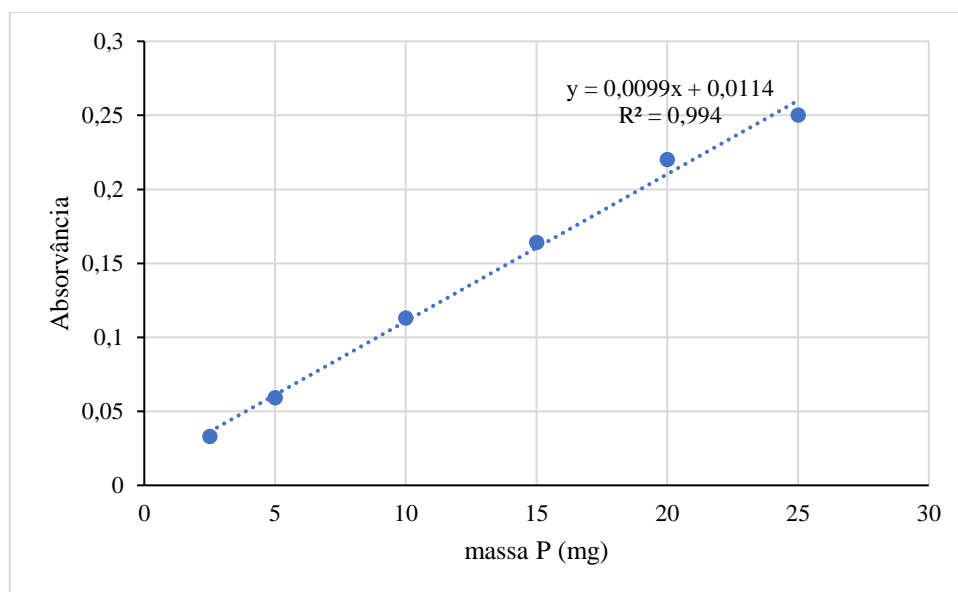


Figura 3.3 – Exemplo da reta de quantificação de Fósforo do ensaio de FORSU + Pre1.

Nas amostras provenientes da digestão ácida para a quantificação do teor de fósforo, foi utilizado um volume de amostra de 1 mL para o afluente e de 1,5 mL para o efluente. Os volumes das amostras foram colocados em balões de 100 mL, com 8 mL de solução redutora, ao qual foi adicionado NaOH (6 N), na presença de fenolftaleína, até pH > 8,2. O volume das soluções foi completado com água ultrapura (*Milipore*, modelo Elix 10).

Os valores de absorvâncias das amostras e das soluções padrão foram determinadas num espectrofotómetro de marca *Shimadzu*, modelo UV-120-11, com uma luz de comprimento de onda de 880 nm.

Através da equação 3.8 calculou-se a concentração de fósforo presente nas amostras:

$$P = \kappa \times \frac{V_b}{V_a \times V_c} \quad (3.8)$$

Onde,

P: Concentração de fósforo (mg P/mL);

x : Massa de fósforo obtido na reta de calibração (mg P);

V_a : Volume de digerido ácido (mL);

V_b : Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

V_c : Volume de amostra inicial submetido à digestão ácida (mL).

3.1.7 Determinação da concentração de Ácidos Orgânicos Voláteis e Análise Elementar

Análise elementar e a quantificação das concentrações de ácidos orgânicos voláteis (AOV) nos ensaios de coDA foram realizadas no Laboratório de Análises do REQUIMTE, do Departamento de Química, da FCT-NOVA.

Os AOV (ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico e ácido butírico) foram quantificados por HPLC, nos equipamentos *Thermo Surveyor* ou *Dionex ICS3000*, com uma coluna *Biorad Aminex 87H*, a uma temperatura de 30 °C, e um detetor UV 210 nm. Foi utilizada como eluente uma solução 10 mN de H₂SO₄ e um caudal de 0,6 ml/min.

A análise elementar (C, H, N, S) foi realizada num termo-analisador elementar (*CE Instruments*, modelo *Flash EA 1112 CHNS series*).

3.2 Pré-tratamento do Carolo de Milho (CM)

O CM é um resíduo agrícola constituído essencialmente, por celulose, lenhina e hemicelulose, sendo a sua bio-digestibilidade complexa, devido à sua estrutura lenho-celulósica. De modo a superar esta limitação, o CM foi submetido a diferentes pré-tratamentos (mecânico e químicos), com o objetivo de aumentar a sua biodegradabilidade e estudar-se o efeito dos mesmos em termos da (i) eficiência de remoção de celulose, lenhina e hemicelulose; (ii) produção de compostos inibidores para os microrganismos anaeróbios; (iii) solubilização de açúcares. O CM foi submetido um processo mecânico, por moagem, num moinho *Retsch Sigma SM 300*, com um crivo de 1 mm, de modo a obterem-se partículas com uma granulometria ≤ 1 mm. Após a moagem, o CM foi submetido a um pré-tratamento oxidativo, com um de pH 9,8, durante 4 h, a uma temperatura de 23 °C e com diferentes concentrações de sólidos, 2%, Pre 1, e 10%, Pre2 (tabela 3.2). No final dos pré-tratamentos, obteve-se uma fração líquida e uma fração sólida, tendo sido ambas utilizadas nos ensaios da coDA. Nos pré-tratamentos realizados utilizaram-se 122,77 mL de NaOH e 4,23 mL de H₂O₂ no Pre1, e 21,77 mL de NaOH e 4,23 mL de H₂O₂ no Pre2. A utilização de um pH de 9,8 teve como objectivo reduzir o volume de NaOH habitualmente utilizado nos pré-tratamentos alcalinos, os quais recorrem a valores de pH de cerca de 11,2, tornando o processo mais benéfico em termos económicos e ambientais.

Tabela 3.2 – Condições dos pré-tratamentos aplicados ao CM.

Pré-tratamento	Reagente	Código do ensaio	Condições de pré-tratamento	T (°C)	t (min)
Oxidação	H ₂ O ₂	Pre1	Razão H ₂ O ₂ /CM = 0,5 m _{H2O2} /m _{CM} + água alcalina (pH 9,8);	23	240
			Percentagem CM/água alcalina = 2% m _{CM} /V _{água alcalina}		
		Pre2	Razão H ₂ O ₂ /CM = 0,5 m _{H2O2} /m _{CM} + água alcalina (pH 9,8);		
			Percentagem CM/água alcalina = 10% m _{CM} /V _{água alcalina}		

3.2.1 Determinação da fibra total

Na determinação da fibra total, realizada pelo método de Van Soest (Goering e Van Soest, 1970), começou-se por colocar quatro cadinhos de *goosh* (dois para colocação de CM sem pré-tratamento e dois para as amostras de CM pré-tratado) numa mufla micro-ondas (marca *CEM*, modelo *MAS 7000*), durante 2 h, a uma temperatura de 103 ± 2 °C e 550 ± 10 °C. Os cadinhos foram depois arrefecidos num exsiccador e pesados obtendo a sua tara (P_0 a 103 ± 2 °C e P_1 a 550 ± 10 °C).

Pesou-se, $1,0 \pm 0,1$ g de amostra seca e triturada de milho sem pré-tratamento e pré-tratado, para tubos de digestão. Adicionou-se 100 mL de detergente neutro (30 g de n-dodecilsulfato de sódio -*Riedel-de-Haen*, 10 mL de etilenoglicol -*Riedel-de-Haën*, 18,61 g de Na₂EDTA.2H₂O -*Himedia* e 6,81 g de tetraborato de sódio decahidratado - *Riedel-de-Haën*) e 800 mL de água desmineralizada (marca *Milipore*, modelo *Elix 5*) fervente, na presença de sulfito de sódio (*Riedel-de-Haën*) e reguladores de ebulição. Procedeu-se à digestão das amostras num termo-reactor *Behr (Labor-Technick)*, durante 60 minutos, a uma temperatura de 140 °C. Após a digestão, as amostras foram filtradas pelos cadinhos de *goosh*, com água destilada quente e com a ajuda de uma bomba de vácuo (*Vacuubrand*). As amostras foram secas numa estufa (*Memmert*), durante a noite, a uma temperatura de 103 ± 2 °C, tendo sido posteriormente pesadas (peso P_2 = fibra total + cinzas + tara do cadinho). A partir da equação 3.9 foi possível calcular-se a fibra total.

$$\text{Fibra total} = \frac{P_2 - P_0 - \text{Cinzas}}{m_0} \times 100 \quad (3.9)$$

Onde,

Fibra Total - Percentagem de fibra total na amostra (% m/m);

P_0 : Tara do cadinho a 103 ± 2 °C (g);

P_2 : Tara do cadinho + amostra após a digestão com detergente neutro e seca a 103 ± 2 °C (g);

Cinzas: Massa de cinzas na amostra (g);

m_0 : Massa inicial de amostra seca (g).

As massas das amostras retidas nos cadinhos de *goosh* foram transferidas para tubos de digestão, às quais se adicionou 50 mL de detergente ácido (constituído por 20 g de brometo de n-acetil-n,n,n-trimetil amônio - *Acros Organics*, e H₂SO₄ 1N - *Fisher Scientific*, num volume de 1 L), com reguladores de ebulição, sendo digeridas durante 60 minutos, a uma temperatura de 140 °C. As amostras foram filtradas para os cadinhos de *goosh*, sob vácuo (*Vacuubrand*) com lavagem posterior com água desionizada quente. As amostras retidas nos cadinhos de *goosh* foram secas em estufa (*Memmert*), durante a noite, a uma temperatura de 103 ± 2 °C. Posteriormente, as amostras foram pesadas, obtendo-se o peso P_3 (celulose + lenhina + cinzas + tara do cadinho). A celulose foi calculada através da equação 3.10.

$$\text{Celulose} = \frac{P_3 - \text{Lenhina} - P_0 - \text{Cinzas}}{m_0} \times 100 \quad (3.10)$$

Onde,

Celulose: Percentagem de celulose na amostra (% m/m);

P_0 : Tara do cadinho a 103 ± 2 °C (g);

P_3 : Tara do cadinho + amostra após a digestão com detergente ácido e seca a 103 ± 2 °C (g);

Cinzas: Massa de cinzas na amostra (g);

Lenhina: Massa de lenhina na amostra (g);

m_0 : Massa inicial de amostra seca (g).

As amostras presentes nos cadinhos de *goosh* foram transferidas para os tubos de digestão, tendo-se adicionado 10 mL de H₂SO₄ (72% v/v) (*Fisher Scientific*). As amostras foram digeridas em duas fases: numa primeira fase, a digestão das amostras ocorreu durante 60 minutos, a uma temperatura de 30 °C; na segunda fase, as amostras foram digeridas durante 60 minutos, a uma temperatura de 121 °C. Após a digestão, filtraram-se as amostras com água desionizada quente, sob vácuo (*Vacuubrand*) para os cadinhos de *goosh*. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa (*Memmert*), a uma temperatura de 103 ± 2 °C, durante a noite, e posteriormente pesadas, tendo-se obtido o peso P_4 (lenhina + cinzas + tara do cadinho). A lenhina foi quantificada através da equação 3.11.

$$\text{Lenhina} = \frac{P_4 - P_0 - \text{Cinzas}}{m_0} \times 100 \quad (3.11)$$

Onde,

Lenhina: Percentagem de lenhina na amostra (% m/m);

P_0 : Tara do Cadinho a 103 ± 2 °C (g);

P_4 : Tara do cadinho + amostra após a digestão com H_2SO_4 (72% v/v) e seca a 103 ± 2 °C (g);

Cinzas: Massa de cinzas na amostra (g);

m_0 : Massa inicial de amostra seca (g).

Os cadinhos de *goosh*, contendo a restante massa de amostra, foram calcinados numa mufla micro-ondas (CEM, modelo MAS 7000), durante 3 h, a uma temperatura de 550 ± 10 °C. Foram posteriormente arrefecidos e pesados, tendo-se obtido sendo o peso P_5 (tara do cadinho + cinzas). O cálculo das cinzas foi obtido através da equação 3.12.

$$\text{Cinzas} = \frac{P_5 - P_1}{m_0} \times 100 \quad (3.12)$$

Onde,

Cinzas: Massa de cinzas na amostra (g);

P_1 : Tara do cadinho a 550 ± 10 °C (g);

P_5 : Tara do cadinho + amostra após a digestão com H_2SO_4 (72% v/v) e calcinada a 550 ± 10 °C (g);

m_0 : Massa inicial da amostra seca (g).

A hemicelulose foi quantificada a partir da diferença entre a Fibra total, celulose e lenhina a partir da equação 3.13.

$$\text{Hemicelulose} = \text{Fibra total} - \text{Lenhina} - \text{Celulose} \quad (3.13)$$

Onde,

Hemicelulose: Percentagem de hemicelulose na amostra (% m/m);

Fibra Total: Percentagem de fibra total na amostra (% m/m);

Celulose: Percentagem de celulose na amostra (% m/m);

Lenhina: Percentagem de lenhina na amostra (% m/m).

A percentagem de remoção de celulose, lenhina e hemicelulose foram determinadas pela equação 3.14:

$$\alpha \text{ remoção (\%)} = \left(1 - \frac{\% \alpha \text{ CM após pré-tratamento}}{\% \alpha \text{ CM sem pré-tratamento}}\right) \times 100 \quad (3.14)$$

Onde,

α : Percentagem de lenhina, celulose e hemicelulose no CM (%).

3.2.2 Determinação da concentração de compostos inibidores e açúcares

As concentrações dos compostos inibidores e açúcares foram determinadas no laboratório de Análises do REQUIMTE-DQ, FCT-NOVA. Os açúcares analisados compreenderam a arabinose, xilose, glucose e frutose. A sua determinação foi realizada por cromatografia líquida, num equipamento *Dionex ICS3000*, constituído por uma coluna *Dionex Carbpac PA10 250×4 mm* e um detetor *PAD-Pulsed Amperometric Detection*, a uma temperatura de 30 °C. O eluente utilizado foi o NaOH (18 mN).

Os compostos fenólicos, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido tânico, ácido clorogénico, ácido cafeico e ácido salicílico foram determinados por cromatografia líquida, num equipamento *Dionex ICS3000*, constituído por coluna *Waters Novapak C 18* e um detetor de fotodíodos a 280 nm, 320 nm e 365 nm.

Os furfurais foram determinados por cromatografia líquida num equipamento *Thermo Surveyor* ou *Dionex ICS3000*, com uma coluna *Biorad Aminex 87H*, por cromatografia líquida, a uma temperatura de 30 °C, e um detetor UV 280 nm. Utilizou-se com eluente H₂SO₄ 10 mN, com um caudal de 0,6 ml/min.

3.3 Unidade Laboratorial de Digestão Anaeróbia e Condições de Operação

Os diferentes ensaios de codigestão anaeróbia foram realizados, num fermentador de bancada (*New Brunswick Scientific*, modelo *Bioflo 1000*), com um fluxo semi-contínuo (Fig. 3.4) e operado a uma temperatura de 50 ± 1 °C e um pH de 8,1 ± 0,1.

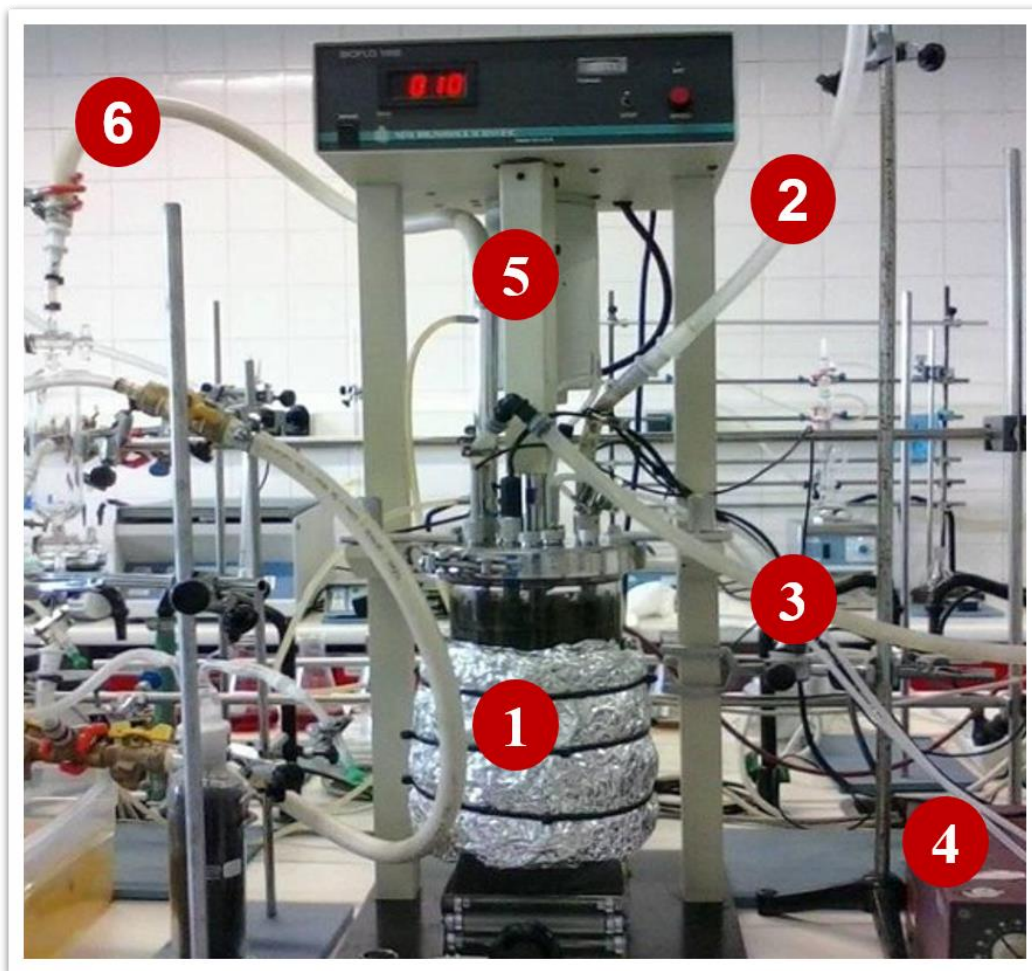


Figura 3.4 – Fermentador *New Brunswick Scientific*, modelo *BIOFLO 1000*. (1) Vaso de fermentação com cinta de aquecimento e poliéster de isolamento; (2) Tubagem de entrada do afluente; (3) Tubagem de saída do efluente; (4) Bomba peristáltica para remoção do efluente; (5) Sistema de agitação com motor externo, eixo de transmissão e pás no interior do fermentador (pás não visíveis na imagem); (6) Tubagem de saída do biogás com condensador de vapores.

O fermentador era constituído por um recipiente cilíndrico em vidro, com um volume de 2,1 L, apresentando em seu redor uma cinta de aquecimento, que se encontrava ligada a um termopar instalado na tampa do fermentador, para a medição da temperatura do líquido presente no bioreator. A entrada do afluente e a saída do efluente era controlada por uma bomba peristáltica, operada manualmente, de modo a garantir-se que o volume de entrada era semelhante ao volume de saída. Na parte superior do digestor encontrava-se ainda instalados um eléctrodo de pH e um eléctrodo de medição de potencial de redox. O fermentador era equipado com um sistema de agitação, apresentando uma velocidade muito reduzida (cerca de 10 rpm), de modo a garantir a homogeneização do meio no interior do bioreator.

Para a realização dos diferentes ensaios de coDA entre FORSU e CM, utilizou-se como inóculo um volume de 525 mL lama anaeróbia, proveniente dos reatores metanogénicos da ETVO – Valorsul.

A medição do volume de biogás produzido durante os ensaios de coDA foi determinada em duas colunas de acrílico (Fig. 3.5), preenchidas com água desmineralizada (Millipore, modelo Elix 5) acidificada. As colunas de medição de biogás continham um volume total de 6720 mL. Devido à pressão exercida pelo biogás produzido no interior do digestor anaeróbio, este era enviado para a linha de biogás que ligava o digestor à coluna de biogás. Deste modo, o biogás ocupava o volume de líquido no interior das colunas, sendo possível quantificar-se o volume de biogás produzido nos ensaios através da altura de biogás armazenado.

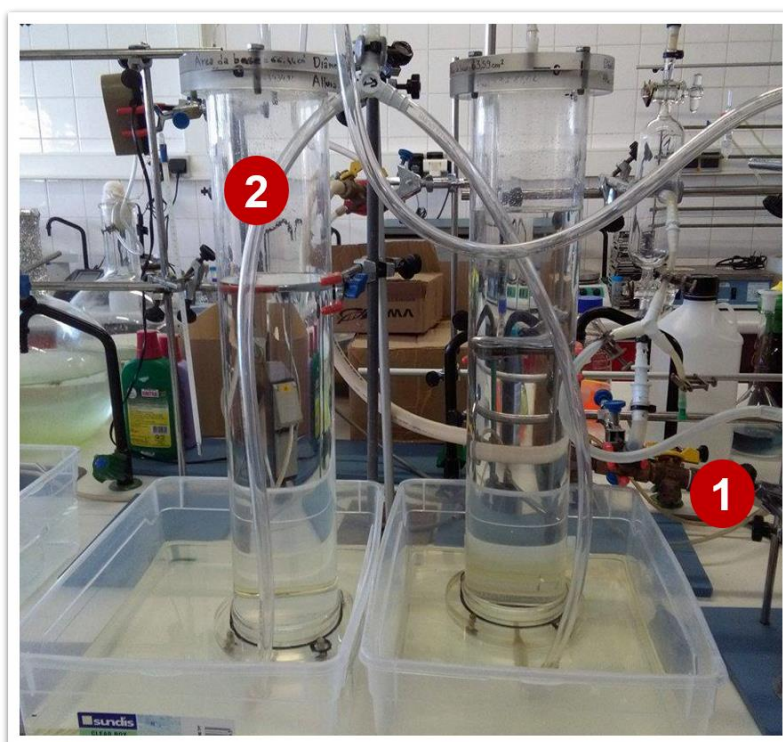


Figura 3.5 – Sistema de armazenamento de biogás. (1) Tubo de condução do biogás do digestor para as colunas; (C1 e C2) Colunas de acrílico.

Para a determinação da composição do biogás produzido durante os ensaios coDA, este era armazenado em sacos de 10 L (Fig 3.6) (*SKC, Tedlar Sample Bag*), sendo a sua composição analisada através de uma sonda *Gas Data*, marca *Séries GFM 410*.



Figura 3.6 – Armazenamento do biogás em sacos: (1) Tubo de condução de biogás do digestor para os sacos; (2) Sacos de 10 L (SKC, Tedlar Sample Bag).

A figura 3.7, mostra o diagrama geral da unidade laboratorial de digestão anaeróbia utilizada no presente trabalho.

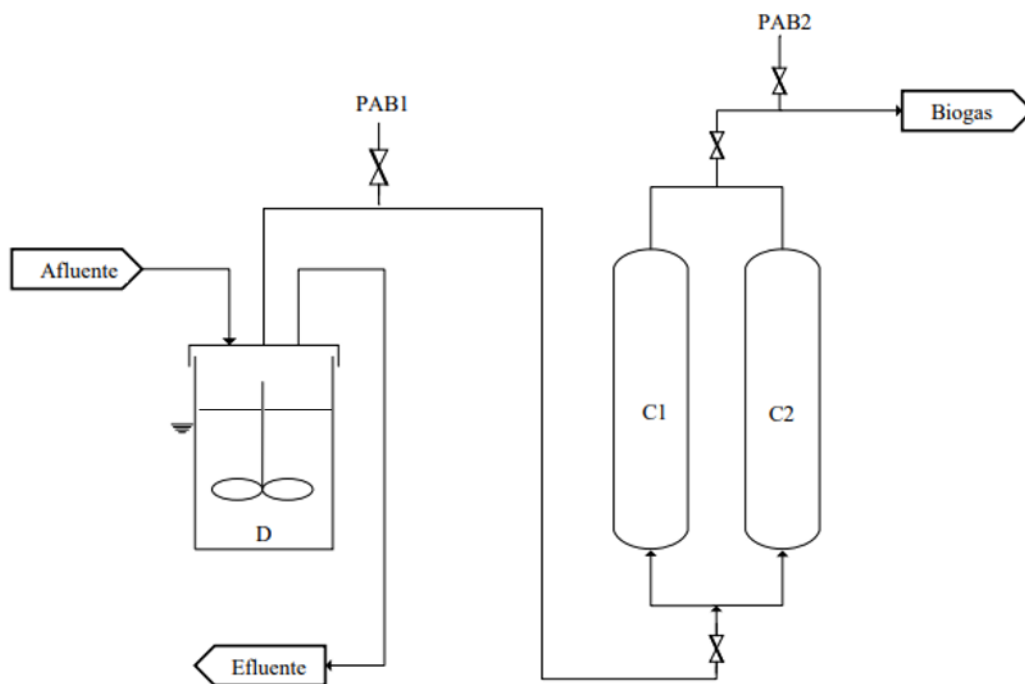


Figura 3.7 – Esquema da unidade laboratorial de digestão anaeróbia. Acrónimos: D – Digestor; PAB# - Ponto de amostragem de Biogás; C# - Colunas de água.

3.4 Ensaios de coDigestão Anaeróbia (coDA)

Com o objetivo de se avaliar o efeito entre a FORSU e o CM durante a coDA, nomeadamente no que se refere ao aumento do rendimento de CH₄ e biogás, foram realizados ensaios de coDA entre hidrolisado de FORSU e CM pré-tratado, bem como ensaios de coDA entre hidrolisado de FORSU e CM sem pré-tratamento, para efeitos de comparação.

3.4.1 Alimentação do Digestor Anaeróbio

Como já foi referido anteriormente, nos diferentes ensaios realizados da coDA, a alimentação do digestor era feita três vezes por semana, respetivamente, à segunda, quarta e sexta-feira. A entrada do afluente no digestor era realizada com a ajuda de um funil ligado ao tubo, encontrando-se este devidamente cheio, de modo a evitar a entrada de ar no digestor. Com o tubo totalmente preenchido e as pinças devidamente abertas, a alimentação era realizada com a ajuda de uma bomba peristáltica (marca *Watson Marlow*, modelo 315S). O líquido presente no tubo (afluente) entrava no digestor enquanto que ao mesmo tempo, o líquido digerido (efluente) saía por outro tubo, em volumes completamente iguais. Após a alimentação estar completa, a linha de biogás era aberta para as colunas ou para os sacos. Nos ensaios coDA de FORSU com CM, o digestor anaeróbio foi alimentado com uma carga orgânica de 2,48 g SV/(L.d). O volume dos afluentes dos ensaios de coDA eram diferentes, uma vez que nos ensaios de FORSU + Pre1 e FORSU + Pre2 foi necessário realizar o pré-tratamento do CM, de acordo com as condições anteriormente referidas na tabela 3.2. No ensaio de FORSU + Pre0, o digestor anaeróbio foi alimentado com um volume de 233 mL de hidrolisado de FORSU e como a alimentação do digestor se realizava três vezes por semana, o volume do substrato adicionado ao digestor por dia nesta alimentação era de 100 mL/dia $((233 \text{ mL/dia} \times 3 \text{ dias/semana}) / (7 \text{ dias}))$. O TRH do ensaio de FORSU + Pre0 foi de 21 dias. Por sua vez, o TRH do ensaio de coDA de FORSU + Pre1 foi de 13,6 dias, uma vez que ocorreu um aumento do volume do afluente de alimentação devido ao pré-tratamento realizado ao CM. Isto é, o volume total de afluente na alimentação do digestor era de 360 mL durante três vezes/semana (233 mL de hidrolisado de FORSU + 122,77 mL de NaOH + 4,23 mL de H₂O₂). Por fim, no ensaio de FORSU + Pre2, o TRH foi de 18,9 dias, uma vez que o volume total de afluente na alimentação do digestor foi de 259 mL durante três vezes/semana (233 mL de hidrolisado de FORSU + 21,77 mL de NaOH + 4,23 mL H₂O₂).

O afluente foi aquecido em banho de água (marca *P Selecta*, modelo *Precisdig*), até atingir a temperatura de 50 ± 1 °C. Deste modo, foi possível manter a temperatura interior do digestor durante a alimentação, evitando-se assim a submissão do consórcio de bactérias anaeróbias a choques térmicos no interior do bioreator. Diariamente foi efectuado o registo dos valores referentes de temperatura, pH, potencial redox e volume do biogás.

3.4.2 Parâmetros da Caracterização

Em cada ensaio de coDA, procedeu-se à recolha das amostras do afluente e efluente, de modo a avaliar-se a eficiência do processo em termos de rendimento de biogás, rendimento em metano, concentração de AOV e remoção de ST, SV, CQOt, CQOs, teores de azoto Kjeldahl e amoniacal, fosforo total. Todas as análises foram realizadas pelo menos em duplicado.

3.4.3 Análise quantitativa e qualitativa de biogás

Como já foi referido anteriormente, a determinação quantitativa da produção de biogás nos diferentes ensaios coDA, foi efetuada a partir das dimensões das colunas de armazenamento de biogás. O volume de biogás foi determinado pela medição da altura do biogás no interior das colunas e pela área interna das colunas. O biogás foi calculado a partir da equação 3.15:

$$V_{\text{Biogás}} = \pi \times r^2 \times h \quad (3.15)$$

Onde,

$V_{\text{biogás}}$: Volume de biogás (cm³);

r : Raio da secção interna das colunas de armazenamento do biogás (cm);

h : Altura do biogás nas colunas de armazenamento (cm);

Por sua vez, para a análise qualitativa do biogás, este era armazenado em sacos *Tedlar* 10 L (marca *SKC, Tedlar Sample Bag*). A sua caracterização foi efetuada a partir de uma sonda de *Gas Data*, modelo *GFM Series 410*, sendo possível quantificar os principais constituintes do biogás como CH₄ (% v/v), CO₂ (% v/v), O₂ (% v/v), CO (ppm v/v) H₂ (ppm v/v) e H₂S (ppm v/v) e Lower Explosive Limit (LEL%). O volume de CH₄ produzido foi calculado a partir da equação 3.16:

$$V_{\text{CH}_4} = \frac{\text{CH}_4 \times V_{\text{Biogás}}}{100} \quad (3.16)$$

Onde,

V_{CH_4} : Volume de metano produzido (cm³);

$\%_{\text{CH}_4}$: Percentagem de metano no biogás (%);

$V_{\text{Biogás}}$: Volume de biogás (cm³).

3.4.4 Cargas aplicadas, eficiência de remoção e rendimentos de produção

As cargas volúmicas de SV introduzidas no digestor foram calculadas pela equação 3.17:

$$\text{Carga SV} = \frac{\text{SV}_a \times V_a}{V_r} \quad (3.17)$$

Onde,

Carga SV: Carga volúmica de SV aplicada no digestor (g SV/ (L/dia));

SV_a: Concentração de SV no afluente (g SV/L);

V_a: Volume de afluente diariamente introduzido no digestor (L/dia);

V_r: Volume útil do digestor (L).

A eficiência de remoção de ST e SV foi calculada, em todos os ensaios, através das equações 3.18 e 3.19:

$$\text{Eficiência ST} = \frac{ST_a - ST_e}{ST_a} \times 100 \quad (3.18)$$

Onde,

Eficiência ST: Eficiência de remoção ST (%);

ST_a: Concentração dos ST no afluente (g ST/L);

ST_e: Concentração dos ST no efluente (g ST/L).

$$\text{Eficiência SV} = \frac{SV_a - SV_e}{SV_a} \times 100 \quad (3.19)$$

Onde,

Eficiência SV: Eficiência de remoção SV (%);

SV_a: Concentração dos SV no afluente (g SV/L);

SV_e: Concentração dos SV no efluente (g SV/L).

A eficiência de remoção de CQOt e CQOs foi calculada, em todos os ensaios, através das equações 3.20 e 3.21:

$$\text{Eficiência CQOt} = \frac{CQOt_a - CQOt_e}{CQOt_a} \times 100 \quad (3.20)$$

Onde,

Eficiência CQOt: Eficiência de remoção CQOt (%);

CQOt_a: Concentração de CQOt no afluente (mg O₂/L);

CQOt_e: Concentração de CQOt no efluente (mg O₂/L).

$$\text{Eficiência CQOs} = \frac{CQOs_a - CQOs_e}{CQOs_a} \times 100 \quad (3.21)$$

Onde,

Eficiência CQOs: Eficiência de remoção CQOs (%);

CQOs_a: Concentração de CQOs no afluente (mg O₂/L);

CQOs_e: Concentração de CQOs no efluente (mg O₂/L).

Os rendimentos de produção de biogás e CH₄, foram calculados em relação à carga volúmica de SV aplicada no digestor anaeróbio. Os rendimentos de produção de biogás e CH₄, foram calculados pelas equações 3.22 e 3.23:

$$\eta_{\text{biogás/SV}} = \frac{V_{\text{biogás}}}{\text{Carga}_{\text{SV}} \times V_r} \times 100 \quad (3.22)$$

Onde,

$\eta_{\text{Biogás/SV}}$: Rendimento de produção de biogás em relação à carga de SV (L_{biogás}/g SV);

V_{Biogás}: Volume de biogás produzido por dia (L_{biogás}/dia);

Carga SV: Carga volúmica de SV aplicada no digestor (g SV/(L dia));

V_r: Volume útil do digestor (L).

$$\eta_{\text{CH}_4} = \frac{V_{\text{CH}_4}}{\text{Carga}_{\text{SV}} \times V_r} \times 100 \quad (3.23)$$

Onde,

$\eta_{\text{CH}_4/\text{CQO}_t}$: Rendimento de produção de CH₄ em relação à carga SV (L_{CH₄}/g SV);

V_{CH₄}: Volume de CH₄ produzido por dia (L_{CH₄}/dia);

Carga SV: Carga Volúmica de SV aplicada no digestor (g SV/(L dia));

V_r: Volume útil do digestor (L).

3.5 Análise estatística

A significância estatísticas das diferenças entre os parâmetros avaliados nos pré-tratamentos realizados (remoção de celulose, hemicelulose e lenhina, concentração de compostos inibidores e concentração de açúcares), bem a análise qualitativa e quantitativa do biogás foi realizada através da análise da variância (ANOVA) a um fator , com um nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pré-tratamentos do CM

As figuras 4.1 a 4.3 apresentam as concentrações dos compostos fenólicos, açúcares e percentagens de remoção de lenhina, hemicelulose e celulose obtidos após a realização dos pré-tratamentos.

A partir da análise da figura 4.1, verifica-se que os ácidos cafeico e p-cumárico foram os principais compostos fenólicos produzidos durante os pré-tratamentos com H_2O_2 , à temperatura ambiente. As concentrações mais elevadas dos ácido cafeico e p-cumárico, de 3,75 mg/L e 5,30 mg/L, respetivamente foram obtidas no pré-tratamento Pre2 (H_2O_2 /0,5/10%CM/pH 9,8/4h/23°C). Pelo contrário, em menores concentrações, foram obtidos os ácidos clorogénico e ferúlico, ambos com 0,35 mg/L, no pré-tratamento Pre1 (H_2O_2 /0,5/2%CM/pH 9,8/4h/23°C), e os ácidos sirínico e vanílico com 0,525 mg/L e 0,35 mg/L, respetivamente, no pré-tratamento Pre2. Por sua vez, observa-se uma maior produção de compostos fenólicos (ácido gálico, sirínico, vanílico, vanilina e protocatecuico) no pré-tratamento Pre2 em comparação com o pré-tratamento com Pre1.

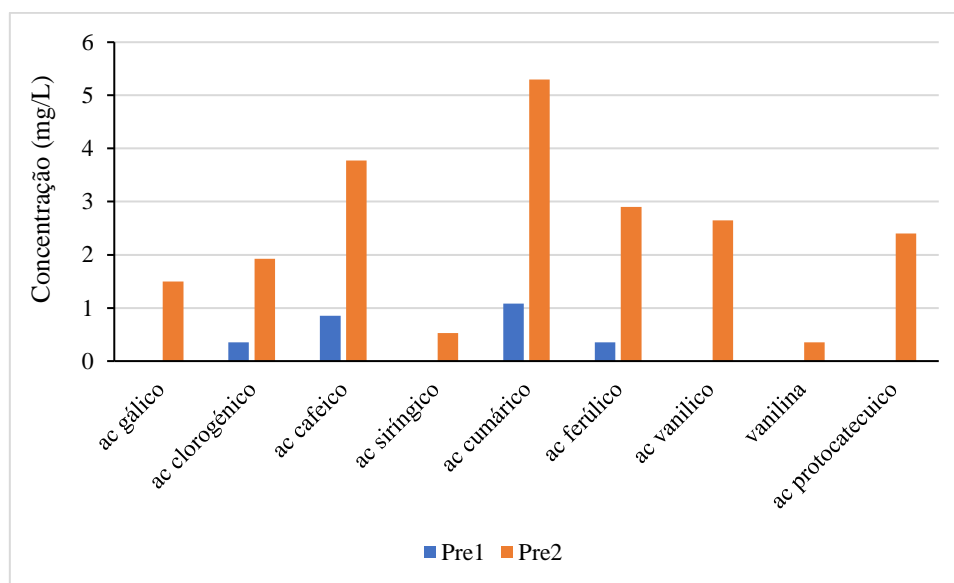


Figura 4.1 – Concentração de compostos fenólicos na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados.

De acordo com Akassou et al. (2010), uma concentração de ácido cumárico superior a 50 mg/L, inibe a fase metanogénica, enquanto que concentrações de ácido gálico e cafeico de 1,0 g/L, inibem a DA. Por sua vez, Battista, Fino, & Ruggeri (2014), estudaram a coDA, entre bagaço de azeitona e águas residuais provenientes da produção de azeite, obtendo uma redução de 50% de CH_4 , com uma concentração de ácido gálico de 53,78 mg/L. Segundo Behera et al. (2014), os compostos fenólicos vanílico e sirínico, afetam o crescimento das bactérias.

Deste modo, pode-se concluir que os valores dos compostos fenólicos obtidos nos pré-tratamentos com H₂O₂, à temperatura ambiente, foram inferiores aos valores citados por estes autores como possíveis concentrações de inibição para o processo da DA.

A partir da figura 4.2, observa-se que os principais açúcares produzidos, durante os pré-tratamentos, foram a glucose e a frutose. O pré-tratamento Pre2, apresentou as concentrações mais elevadas de glucose e frutose com 653 mg/L e 710 mg/L, respetivamente. Por sua vez, em concentrações menores foram obtidos os açúcares arabinose, xilose e galactose. Em relação a outros compostos inibidores para além dos compostos fenólicos, não foram detetados furfurais, nem 5-hidroximetil-2-furfural nas amostras analisadas (limite de deteção <3,5 mg/L e <3,9 mg/L, respetivamente). Segundo Belay, Boopathy, & Voskuilen (1997), concentrações superiores a 20 mM de furfural (1,92 g/L) inibem fortemente o crescimento de *Methanococcus deltae*. De acordo com Behera et al. (2014), os furfurais e o 5-hidroximetil-2-furfural, formados a partir da decomposição de pentoses e hexoses, aumentam a fase de latência e abrandam o desenvolvimento da população microbiana anaeróbia.

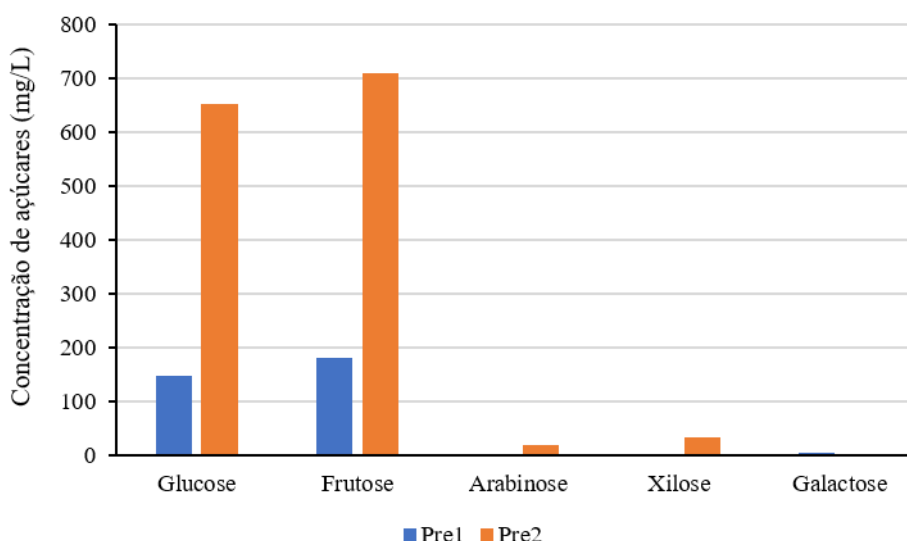


Figura 4.2 – Concentração de açúcares na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados.

Banerjee et al. (2011), a partir do pré-tratamento de H₂O₂ da palha do milho, com uma razão de 0,25 g biomassa /g H₂O₂ e uma concentração de sólidos 10% (m/v), à temperatura ambiente, durante 24 h, com um pH 11,5, obtiveram uma solubilização de 95% de glucose. Por sua vez, Mittal et al. (2017), com o pré-tratamento da palha do milho numa razão de 0,125 g biomassa/g H₂O₂, à temperatura de 50 °C, durante 3 h, obtiveram concentrações de glucose, xilose e arabinose de 0,55, 0,10 e 0,09 g/L, respetivamente. Deste modo, pode-se concluir que os valores de glucose e frutose obtidos no presente trabalho foram superiores aos resultados citados pelos autores.

A figura 4.3 apresenta os resultados de remoção de lenhina, celulose e hemicelulose durante o pré-tratamento do CM.

Observando-se a figura 4.3 verifica-se que o pré-tratamento Pre1 apresentou uma solubilização de 11,3% de celulose, mas não ocorreu remoção de lenhina e hemicelulose. Por outro lado, no pré-tratamento Pre2, registou-se remoções de lenhina e hemicelulose de 5,7% e 5,6%, respetivamente, mas não ocorreu solubilização de celulose.

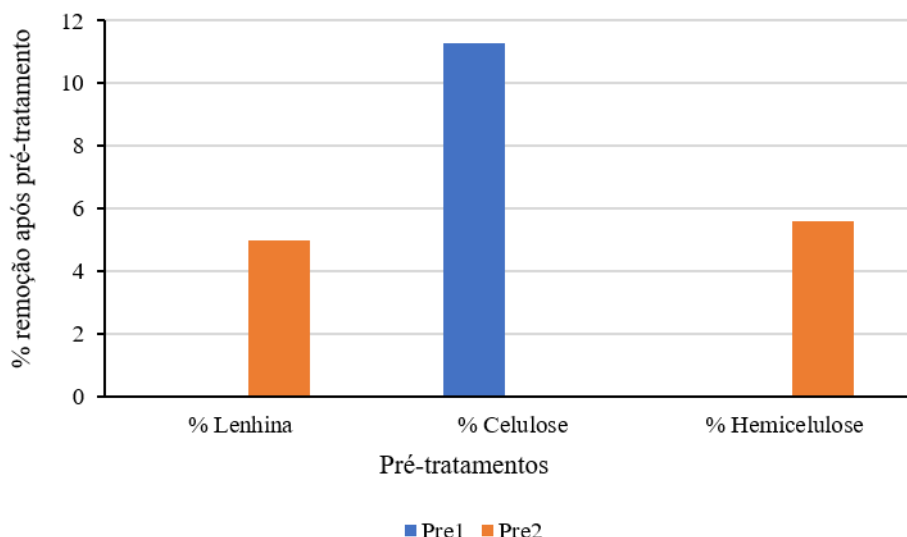


Figura 4.3 – Percentagem de remoção de lenhina, celulose e hemicelulose nos pré-tratamentos do CM com H_2O_2 .

Shawky et al. (2011), com um pré-tratamento do caule de milho com H_2O_2 1% (m/v), à temperatura de 60 °C, durante 6 h, e uma razão de concentração de 0,02 g/mL de caule de milho/ H_2O_2 , obtiveram uma remoção máxima de lenhina de 81%. Num estudo de pré-tratamento do carolo de milho com H_2O_2 2% (m/m) e uma razão de concentração 0,05 g/mL de milho/ H_2O_2 , durante 6 h, a um pH de 11,5, os autores obtiveram remoções de lenhina e hemicelulose de 75,4 % e 38,7 %, respetivamente (Su et al., 2015). Em termos de eficiência de remoção de lenhina, celulose e hemicelulose, conclui-se que, os resultados obtidos, não estão de acordo com os valores encontrados na literatura.

4.2 Cargas orgânicas aplicadas ao digestor anaeróbio

A figura 4.4 apresenta as cargas orgânicas volúmicas aplicadas ao digestor anaeróbio durante os ensaios de coDA realizados com hidrolisado de FORSU + CM (FORSU+ Pre0, FORSU + Pre1 e FORSU + Pre2).

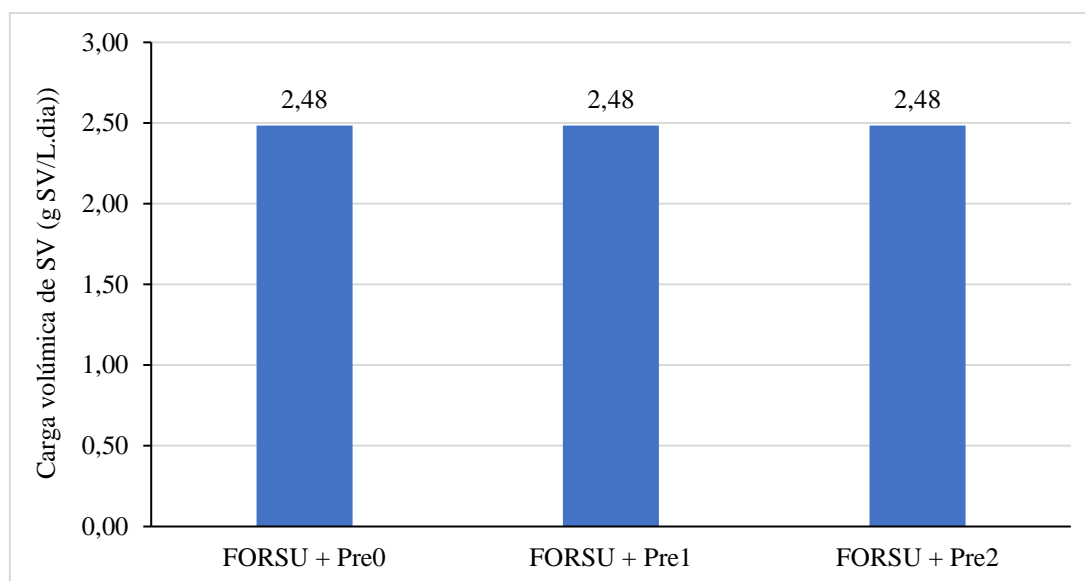


Figura 4.4 – Carga volumica de SV aplicada ao digestor anaeróbio nos ensaios de coDA.

Em todos os ensaios coDA, a carga orgânica aplicada foi semelhante entre si, correspondendo a cerca de 2,48 g SV/(L.dia). Um aumento da carga SV conduz a uma maior produção de biogás e CH_4 mas, sendo muito elevada, pode também potenciar uma possível falha do processo da DA devido ao aumento da acidez do meio, o qual se encontra relacionado com a elevada produção de AOV.

4.3 Parâmetros de controlo

A tabela 4.1 apresenta os valores médios e os desvios padrão dos parâmetros de controlo monitorizados ao longo dos ensaios coDA.

A partir da análise da tabela 4.1 conclui-se que o ambiente no interior do digestor anaeróbio foi fortemente redutor para a produção de CH_4 e para redução do sulfato (SO_4^{2-}) a H_2S , uma vez que o valor de potencial redox foi inferior a -400 mV, em todos os ensaios coDA (Gerardi, 2003). No entanto, também existiu condições para a redução do sulfato. Por sua vez, a temperatura e o pH mantiveram-se estáveis, verificando-se que as flutuações ocorridas não foram suficientemente bruscas de modo a influenciar a atividade microbiana.

Tabela 4.1 – Valores médios de temperatura, pH e potencial redox nos ensaios coDA.

Ensaio coDA	Temperatura (°C)	pH	Potencial Redox (mV)
FORSU + Pre0	49,83 ± 0,12	8,19 ± 0,06	-429 ± 6,79
FORSU + Pre1	49,90 ± 0,08	8,22 ± 0,08	-440 ± 9,78
FORSU + Pre2	49,99 ± 0,10	8,16 ± 0,07	-430 ± 6,33

O valor de pH aumenta da fase acidogénica para a metanogénica com a produção do azoto proveniente da digestão das proteínas, durante o processo da DA, situando-se entre 7,6 e 8,2,

quando a produção de biogás estabiliza (Abbasi et al. 2012). Segundo Drog (2013), para uma produção otimizada de biogás, os microrganismos metanogénicos necessitam de um meio fortemente redutor, com um potencial redox inferior a -300 mV. Por outro lado, a temperatura, durante todo o processo da produção de biogás, deve-se manter estável, uma vez que alterações bruscas e frequentes afetam a taxa de crescimento, o desenvolvimento e o metabolismo das bactérias anaeróbias (Appels et al., 2008).

4.4 Caracterização dos afluentes e efluentes

A análise da eficiência da codigestão anaeróbia foi efetuada a partir da caracterização dos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio. Foi realizada uma comparação, para cada um dos parâmetros analisados, dos ensaios de codigestão FORSU + Pre0 com os ensaios de codigestão FORSU + Pre1 e Pre2.

4.4.1 Análise elementar

Na tabela 4.2 apresentam-se as médias e os desvios-padrão da análise elementar do afluente do digestor anaeróbio durante os ensaios coDA.

Tabela 4.2 – Média e desvios-padrão da análise elementar ao afluente dos ensaios coDA.

Parâmetro	Unidades	FORSU + Pre0	FORSU + Pre1	FORSU + Pre2
C	% m/v	2,82 ± 0,04	3,10 ± 0,71	4,75 ± 0,48
N	% m/v	0,38 ± 0,00	0,38 ± 0,10	0,53 ± 0,01
H	% m/v	7,81 ± 0,81	7,20 ± 3,20	9,18 ± 0,19
S	% m/v	0,05 ± 0,06	0,05 ± 0,06	< 0,01
C/N	adimensional	7,42	8,16	8,96

A partir da análise da tabela 4.3 verifica-se que as concentrações mais elevadas de N e C foram obtidas no ensaio de FORSU + Pre2, com valores de 0,53 % m/v e 4,75 % m/v, respetivamente. Por sua vez, o ensaio de FORSU + Pre0 obteve a menor concentração de N e C, nomeadamente de 0,38 % m/v e 2,82 % m/v, respetivamente. Deste modo, o ensaio de FORSU + Pre2 obteve a razão C/N mais elevada (8,96), enquanto que o ensaio de FORSU + Pre0, obteve a razão C/N mais baixa (7,42).

O CM é um resíduo que apresenta um elevado teor de C e um baixo teor de N, sendo importante ser codigerido com outra biomassa biodegradável com um maior teor de N, como a FORSU. Deste modo, pode-se concluir que, apesar da mistura que foi realizada, no presente trabalho, destes dois resíduos orgânicos com o objetivo de se melhorar a razão C/N, as razões obtidas nos ensaios coDA foram inferiores ao intervalo ótimo da razão C/N e C/N/P indicado por Matheri et al. (entre 15:1 e 30:1 e de 600/15/5) (Matheri et al., 2017).

4.4.2 ST e SV

Nas figuras 4.5 e 4.6 apresentam-se os teores médios e os desvios-padrão dos ST e SV obtidos nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, durante os ensaios de coDA.

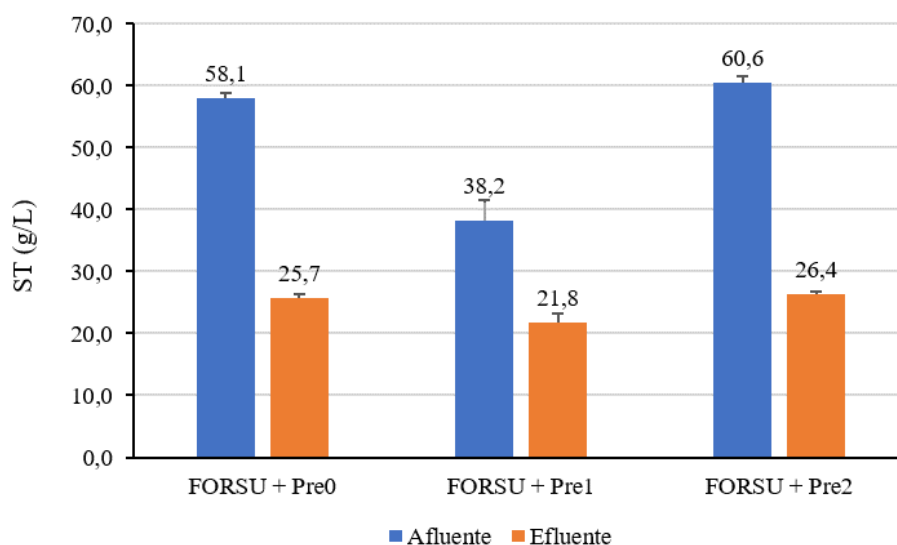


Figura 4.5 – Teores médios e desvios-padrão de ST, nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, nos ensaios coDA.

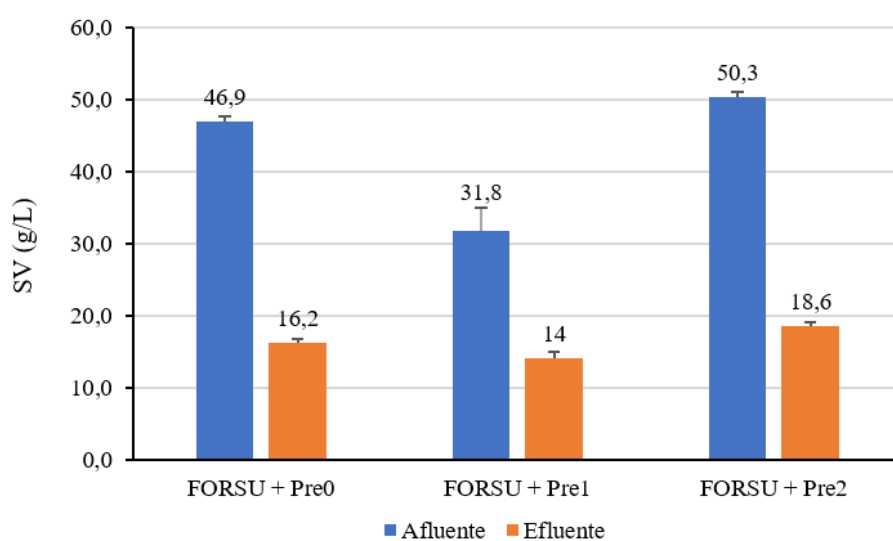


Figura 4.6 – Teores médios e desvios-padrão de SV, nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, nos ensaios coDA.

O afluente do ensaio de FORSU + Pre2 apresentou as concentrações mais elevadas de ST e SV, com 60,6 ST g/L e 50,3 SV g/L, respetivamente. Por sua vez, os menores teores de ST e SV, foram obtidos no afluente do ensaio de FORSU + Pre1, nomeadamente de 38,2 ST g/L e 31,8 SV g/L. A menor concentração de ST e SV obtida no afluente do ensaio de FORSU + Pre1, quando

comparada com os restantes ensaios, está relacionada com a utilização de um maior volume dos reagentes no pré-tratamento do CM, provocando assim, uma maior diluição quando este foi adicionado ao hidrolisado de FORSU.

Na figura 4.7 apresentam-se as eficiências de remoção de ST e SV nos ensaios coDA, os quais foram calculados com base nos resultados apresentados nas Figuras 4.5 e 4.6.

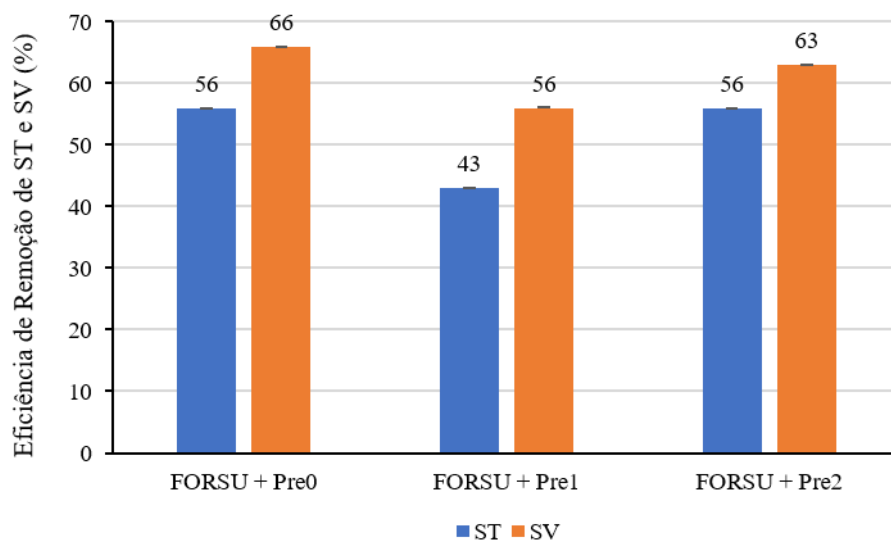


Figura 4.7 – Eficiências médias de remoção e respectivos desvios-padrão de ST e SV, nos ensaios coDA.

Em termos de eficiência de remoção de ST e SV, verifica-se que o ensaio de FORSU + Pre0, apresentou os melhores resultados, nomeadamente de 56% e 66% de ST e SV, enquanto que o ensaio de FORSU + Pre1, apresentou os valores mais baixos, respetivamente de 43% e 56% para ST e SV.

Li et al. (2009) estudaram a coDA de estrume de bovino e palha de milho, em condições mesófilas, com um pré-tratamento da palha do milho com NaOH 2% (m/m), numa razão de massa de 1:3. Estes autores obtiveram remoções máximas de 45% e 53% de ST e SV, respetivamente. Num estudo da coDA de resíduos orgânicos domésticos e palha do milho, tendo sido a palha do milho colocada em diferentes concentrações de NaOH (2%, 4%, 6%, 8% e 10 m/m), em condições de DA mesófila, obtiveram-se remoções máximas de SV entre os 30 e 45% (Song et al., 2014). Por sua vez, Arici e Koçar (2015) estudaram a coDA de silagem de milho e diferentes estrumes de animais, na gama mesófila, obtendo uma remoção máxima de 46,86% de SV.

Deste modo pode-se concluir que os valores citados por todos estes autores são inferiores aos resultados obtidos na presente dissertação com o hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado, o que indica que as condições utilizadas na presente dissertação são mais favoráveis à degradação anaeróbia dos sólidos presentes no substrato (hidrolisado de FORSU) e no co-substrato (CM pré-tratado).

4.4.3 CQOt e CQOs

Nas figuras 4.8 e 4.9 apresentam-se as concentrações médias e os desvios-padrão da CQOt e CQOs nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, durante os ensaios coDA.

A concentração mais elevada de CQOt foi obtida no afluente do ensaio de FORSU + Pre2, com 63,8 g O₂/L, enquanto que o afluente do ensaio de FORSU + Pre1 apresentou o menor teor de CQOt, nomeadamente de 54,3 g O₂/L. Relativamente à concentração de CQOs, o afluente do ensaio de FORSU + Pre0 apresentou o valor mais elevado, com 35 g O₂/L. Pelo contrário, a menor concentração de CQOt foi obtida no afluente do ensaio de FORSU + Pre1, com 20,9 g O₂/L.

Por sua vez, o efluente do ensaio de FORSU + Pre2, foi o que apresentou o valor mais elevado de CQOt, com 17 g O₂/L, enquanto que o efluente do ensaio de FORSU + Pre0 apresentou o menor teor de CQOt, com 15,6 g O₂/L. A concentração mais elevada de CQOs foi obtida no efluente do ensaio de FORSU + Pre0, com 9 g O₂/L, enquanto que o ensaio de FORSU + Pre1 obteve a concentração mais baixa, de 6,2 g O₂/L.

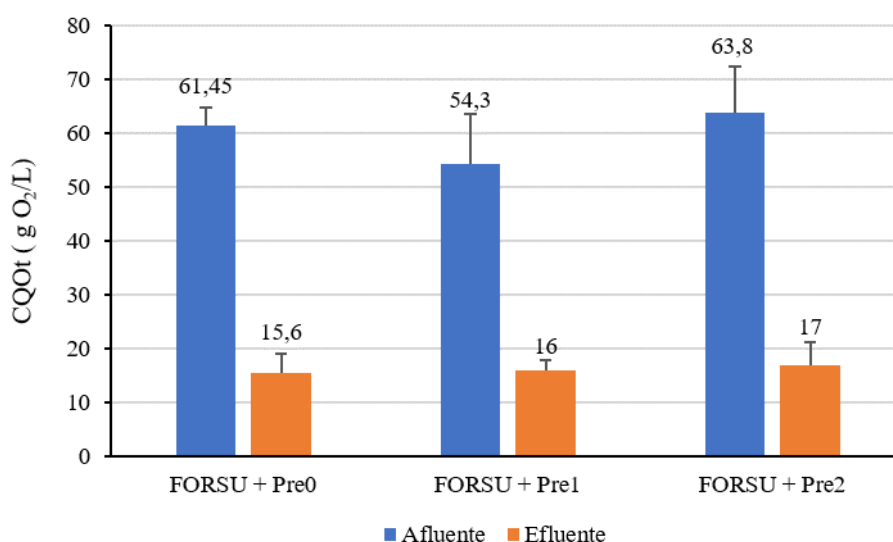


Figura 4.8 – Teores médios e desvios-padrão de CQOt, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, durante os ensaios de coDA.

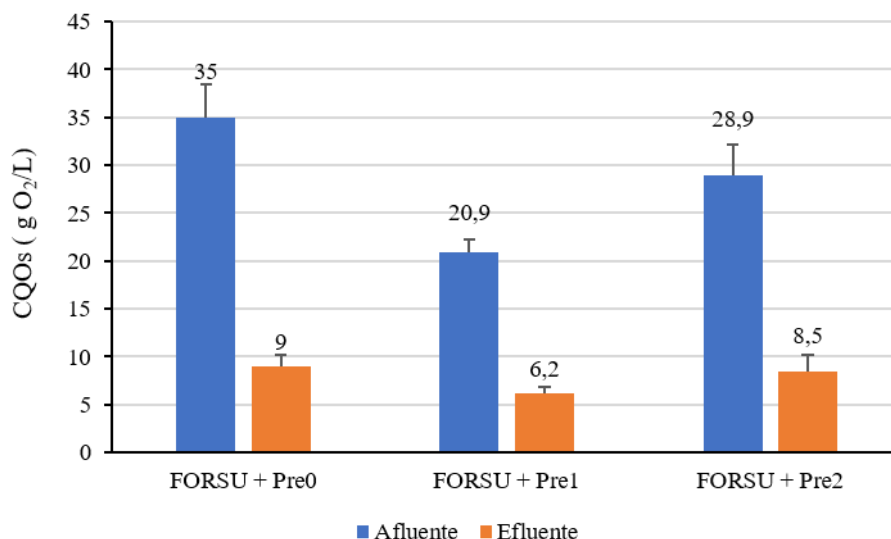


Figura 4.9 – Teores médios e desvios-padrão de CQOs, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, durante os ensaios de coDA.

A partir da análise da tabela 4.3, verifica-se que a adição do CM ao hidrolisado de FORSU, aumenta significativamente a razão de CQOs/CQOt, enquanto que o seu pré-tratamento mostrou não ser eficaz na melhoria desta razão. No entanto, as menores razões de CQOs/CQOt obtidas nos ensaios de FORSU + Pre1 e Pre2, podem estar relacionadas com a utilização de um maior volume devido ao pré-tratamento do CM, provocando assim uma maior diluição quando este é adicionado ao hidrolisado de FORSU.

Tabela 4.3 – Razão CQOs/CQOt obtida nos diferentes ensaios

Ensaio	Razão CQOs/CQOt	
	Afluentes	Efluentes
hidrolisado de FORSU*	37%	52%
FORSU + Pre0	57%	58%
FORSU + Pre1	38%	39%
FORSU + Pre2	45%	50%

*Lancinha (2016).

A Figura 4.10 apresenta as eficiências médias de remoção de CQOt e CQOs obtidas nos ensaios de coDA.

A partir da análise da figura 4.10 conclui-se que em termos de eficiência de remoção de CQOt e CQOs, os ensaios de coDA apresentaram valores muito semelhantes entre si. O ensaio de FORSU + Pre0, foi o que obteve os melhores resultados com 75% e 74%, respetivamente. Pelo contrário, o ensaio de FORSU + Pre1, foi o que apresentou resultados inferiores de CQOt e CQOs,

nomeadamente de 71% e 70%, embora estes valores sejam muito semelhantes aos que foram obtidos no ensaio de FORSU + Pre2.

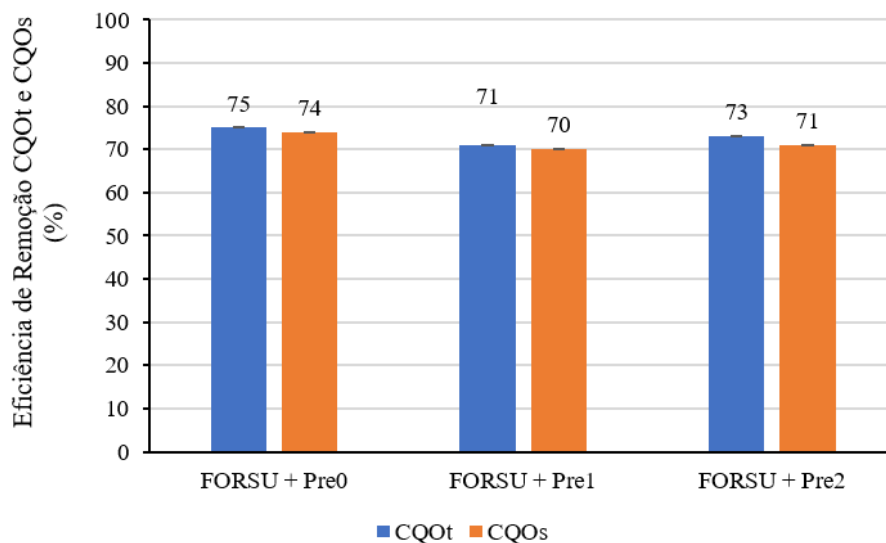


Figura 4.10 – Eficiências médias e desvio-padrão da remoção de CQOt e CQOs, nos ensaios de coDA.

Pan-In & Sukasem (2017) estudaram a produção de CH_4 a partir da coDA de diferentes estrumes de animais e resíduos da produção de milho doce, numa razão de mistura de 1:1, em condições mesófilas. Os resíduos de milho foram pré-tratados com NaOH 2% (m/v), durante 48 h, à temperatura ambiente. Estes autores obtiveram uma remoção de CQOt de 63,89 % na coDA de estrume de vaca e carolo do milho, correspondendo a um valor muito inferior às remoções de CQOt alcançadas na presente dissertação. Esta diferença de resultados ser devida a diferentes fatores, entre os quais se encontra a gama de temperatura em que os ensaios foram realizados: aqueles autores trabalharam na gama mesófila, enquanto que a presente dissertação se trabalhou na gama termófila.

4.4.4 N-Kjeldahl, N-NH_4 e N-O

A tabela 4.3 apresenta as concentrações de azoto N-Kjeldahl, N-NH_4 e N-O obtidas nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, durante os ensaios de coDA.

Verifica-se (tabela 4.4) que o afluente do ensaio de FORSU + Pre0 foi o que apresentou a concentração mais elevada de N-Kjeldahl, nomeadamente de 2240 mg N/L. Por outro lado, o ensaio de FORSU + Pre1 apresentou o menor teor de N-Kjeldahl (1587 mg N/L). Por sua vez, registou-se um aumento da concentração de N-Kjeldahl entre os afluentes e efluentes dos ensaios de coDA. O efluente do ensaio de FORSU + Pre0 apresentou o valor mais elevado de N-Kjeldahl, com 3640 mg N/L, enquanto que o efluente do ensaio de FORSU + Pre1, registou o menor teor de N-Kjeldahl, de 2007 mg N/L. As elevadas concentrações de azoto produzidas durante os ensaios de coDA aumentaram a capacidade tampão da DA, permitindo, assim, a estabilização do

pH e evitando a acumulação de AOV. No entanto, verifica-se que, nos afluentes dos ensaios de coDA, a concentração de N-NH₄ variou entre os 59% e 85%, enquanto que a concentração de N-O se situou entre os 26% e 41%. A elevada concentração de N-NH₄ reflete a elevada concentração de proteínas presentes essencialmente no hidrolisado de FORSU.

Tabela 4.4 – Concentrações médias de N-Kjeldahl, N-NH₄ e N-O e percentagens de N-NH₄ e N-O relativamente ao N-Kjeldahl obtidas nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio durante os ensaios de coDA.

Amostra	N-Kjeldhal (mg N/L)	N-NH ₄ (mg N/L)	N-orgânico (mg N/L)	NH ₄ (% N-Kjeldhal)	N-O (% N-Kjeldahl)
Afluente (FORSU + Pre0)	2240 ± 132	1661 ± 12	579 ± 130	74%	26%
Efluente (FORSU + Pre0)	3640 ± 280	2545 ± 95	1095 ± 374	70%	30%
Afluente (FORSU + Pre1)	1587 ± 93	940 ± 72	647 ± 119	59%	41%
Efluente (FORSU + Pre1)	2007 ± 155	1610 ± 108	397 ± 228	80%	20%
Afluente (FORSU + Pre2)	2053 ± 88	1750 ± 53	303 ± 123	85%	15%
Efluente (FORSU + Pre2)	2240 ± 152	2142 ± 126	98 ± 313	96%	4%

De acordo com Hadj et al. (2009), uma concentração de N-NH₄ superior a 5,600 mg N/L, na DA termófila, reduz em 50% a atividade metanogénica. Khalid et al. (2011) verificaram que com concentrações de NH₄ superiores a 6000 mg N/L ocorre a inibição total da fase metanogénica. Por sua vez, C. Sun et al. (2016), num estudo de coDA com estrume de galinha e silagem do milho, em condições mesófilas, registaram a acumulação de AOV, com uma concentração de N-NH₄ de 7 g N/L, e que a fase metanogénica foi totalmente inibida com uma concentração de N-NH₄ de 9 g N/L. Estes autores, observaram que, entre estes dois intervalos de N-NH₄, no meio anaeróbio, predominou as bactérias metanogénicas hidrogenotróficas. Segundo Shi et al. (2017), concentrações de N-NH₄ entre 1500-7000 mg N/L inibem a fase metanogénica; variação do intervalo de inibição depende do substrato, do inóculo, da temperatura, do pH e da adaptação da população microbiana.

Deste modo, pode-se concluir que as concentrações médias obtidas nos efluentes dos ensaios de coDA (2007 mg N/L no ensaio de FORSU + Pre1, 2240 mg N/L no ensaio de FORSU + Pre2 e

de 3640 mg N/L no ensaio de FORSU + Pre0), foram inferiores aos valores referidos pelos autores, como possíveis concentrações de inibição para o processo da DA.

4.4.5 Fósforo total

A figura 4.11 apresenta os teores médios e os desvios-padrão de fósforo total, nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, nos ensaios de coDA realizados.

A concentração mais elevada de fósforo foi obtida no afluente do ensaio de FORSU + Pre1, com 527 mg P/L, enquanto que o afluente do ensaio de FORSU + Pre2 apresentou a menor concentração de fósforo, nomeadamente de 466 mg P/L. Registou-se uma diminuição da concentração de fósforo entre os afluente e efluente dos ensaios coDA. A maior remoção de fósforo foi obtida no ensaio de FORSU + Pre1, com 33% (527 mg P/L para 354 mg P/L), enquanto que o ensaio de FORSU + Pre0, obteve a menor redução, com 14% (490 mg P/L para 422 mg P/L).

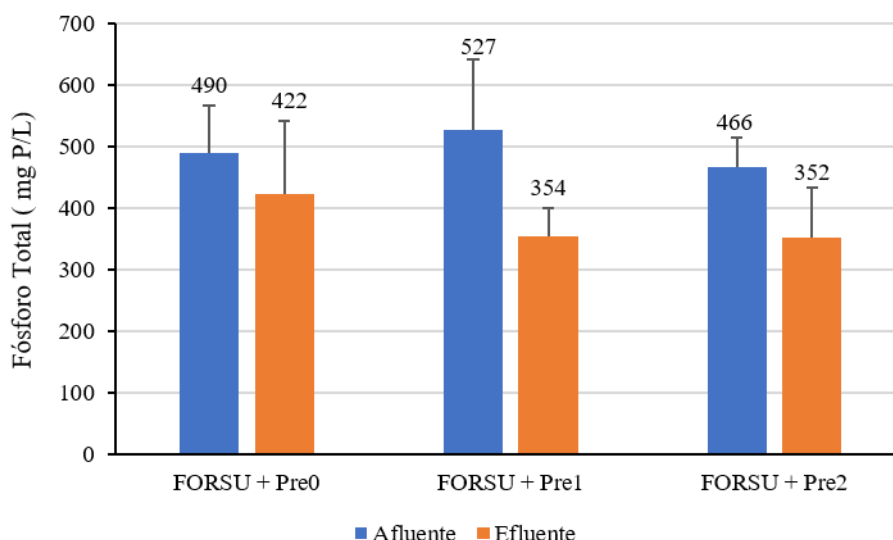


Figura 4.11 – Teores médios e desvios-padrão de fósforo total nos afluente e efluente do digestor anaeróbio, durante os ensaios coDA.

4.4.6 AOVs

As figuras 4.12 e 4.13 apresentam a variação da concentração dos AOVs analisados nos afluente e efluente dos ensaios da coDA, respetivamente.

A partir da análise da figura 4.12, observa-se que o afluente do ensaio de FORSU + Pre0 obteve a concentração mais elevada de ácido acético (4014 mg/L), enquanto que a menor concentração de ácido acético foi obtida no afluente do ensaio de FORSU + Pre1 (3009 mg/L). Por sua vez, as concentrações mais elevadas de ácido butírico e propiónico foram obtidas no afluente do ensaio de FORSU + Pre0 (5856 mg/L e 1796 mg/L, respetivamente). Pelo contrário, as menores

concentrações de ácido butírico e propiónico foram obtidas no afluente do ensaio de FORSU + Pre2, com concentrações de 3512 e 316 mg/L, respetivamente.

O ácido fórmico não foi detetado em nenhum dos afluentes dos ensaios coDA.

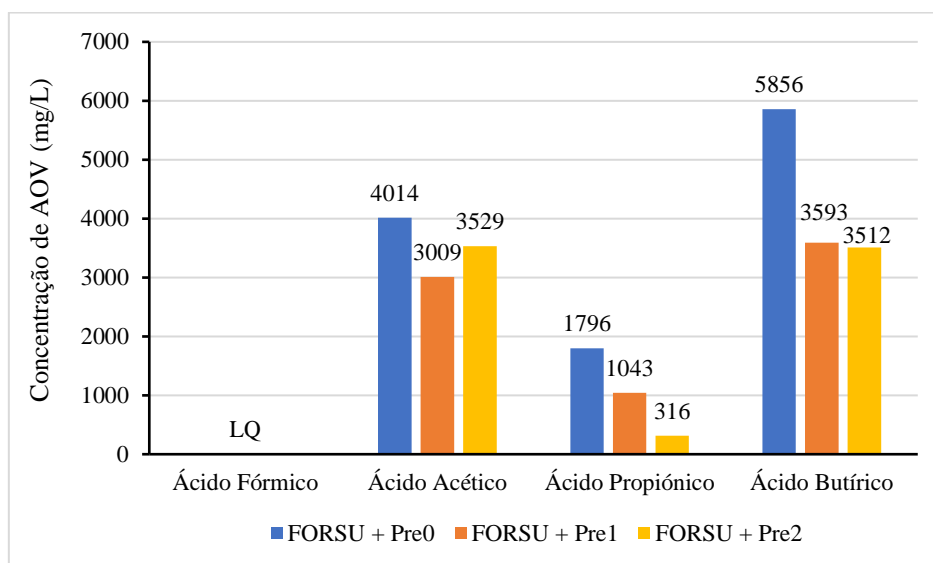


Figura 4.12 – Concentração de AOVs no afluente dos ensaios coDA.

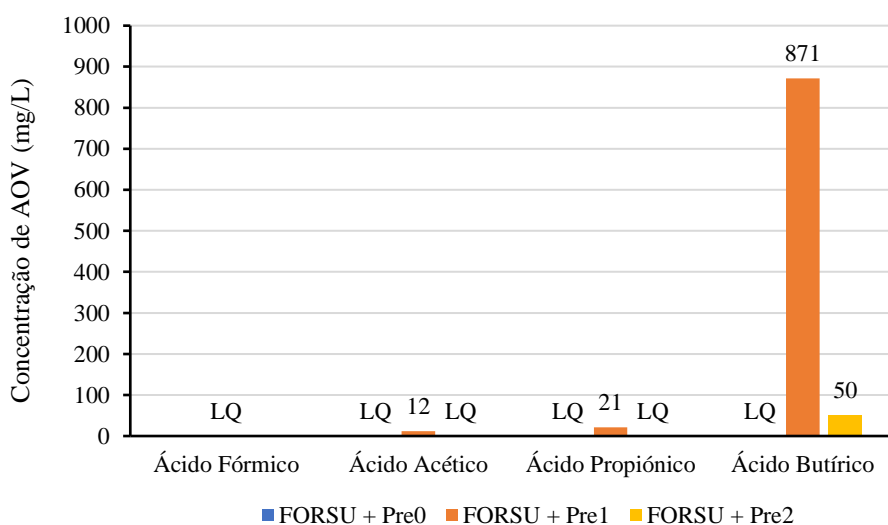


Figura 4.13 – Concentração de AOVs no efluente dos ensaios coDA.

Registou-se uma diminuição muito significativa da concentração de AOVs entre os afluentes e efluentes dos ensaios coDA, o que indica que o digestor anaeróbio apresentou uma elevada eficiência na conversão dos AOVs. O efluente do ensaio de FORSU + Pre1, obteve a concentração mais elevada de ácido butírico, com 871 mg/L. Por sua vez, em nenhum dos efluentes dos ensaios coDA, foram detectadas concentrações de ácido fórmico.

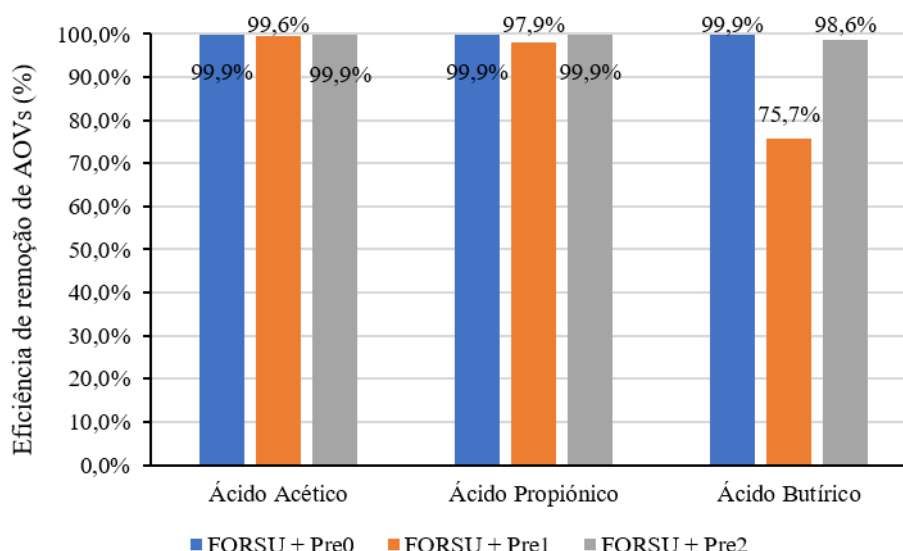


Figura 4.14 – Eficiência de remoção de AOVs entre os afluentes e efluentes dos ensaios coDA.

A partir da figura 4.14, verifica-se que a eficiência de remoção de ácido acético, propiónico e butírico entre os afluentes e os efluentes dos ensaios coDA foi muito significativa, com valores entre os 98,6-99,9%, respetivamente. No entanto, o ensaio de FORSU + Pre0 obteve uma eficiência de remoção de ácido butírico inferior aos ensaios de FORSU + Pre1 e Pre2, nomeadamente de 75,7% (de 3593 mg/L para 871 mg/L).

De acordo com Inanc, Matsui, & Ide (1999), uma concentração de 1 g/L de ácido propiónico inibe a atividade metanogénica. No que diz respeito aos ácidos acético e butírico, as bactérias metanogénicas toleram concentrações de ácido acético e butírico de 10 g/L. Por sua vez, Wang et al. (2009) observaram que com concentrações de ácido acético e butírico de 2400 mg/L e 1800 mg/L, respetivamente, não ocorreu inibição da fase metanogénica, enquanto que uma concentração de ácido propiónico de 900 mg/L afetou a atividade da população metanogénica. Segundo Yuan e Zhu (2016), uma concentração de ácido propiónico superior a 5000 mg/L, com um pH de 7, afeta a produção de CH₄.

Verifica-se assim que as concentrações de AOV obtidas foram muito inferiores às concentrações relatadas pelos autores como inibidoras para o processo da DA, registando-se apenas, uma elevada concentração de ácido butírico, no efluente, do ensaio de FORSU + Pre1, acima do limite de estabilidade.

Relativamente à razão ácido acético/ácido propiónico, o ensaio de FORSU + Pre2, foi o que obteve a razão mais elevada, com um valor de 11, em comparação com os ensaios de FORSU + Pre0 e de FORSU + Pre1, que apresentaram razões muito inferiores, respetivamente de 2,23 e 2,85. No entanto, os ensaios de coDA ocorrem dentro dos limites de estabilidade, uma vez que

uma razão de ácido acético/propiónico inferior a 2 representa uma elevada instabilidade do processo de DA (Drosg, 2013).

4.4.7 Análise quantitativa e qualitativa do biogás

A figura 4.15 e 4.16 apresenta os volumes acumulados de biogás e CH₄ durante 25 dias, para cada um dos ensaios de coDA, após terem sido atingidas condições de estado-estacionário. Os volumes de biogás e CH₄ encontram-se expressos nas condições de Pressão e Temperatura Ambiente Normais (PTAN) (25 °C e 1 atm).

A partir da análise da figura 4.15, verifica-se que o maior volume de biogás acumulado foi obtido no ensaio de FORSU + Pre2, com 121258 cm³, seguido do ensaio de FORSU + Pre0 com 116886 cm³. Por sua vez, o menor volume de biogás acumulado foi obtido no ensaio de FORSU + Pre1, com um valor de 105296 cm³.

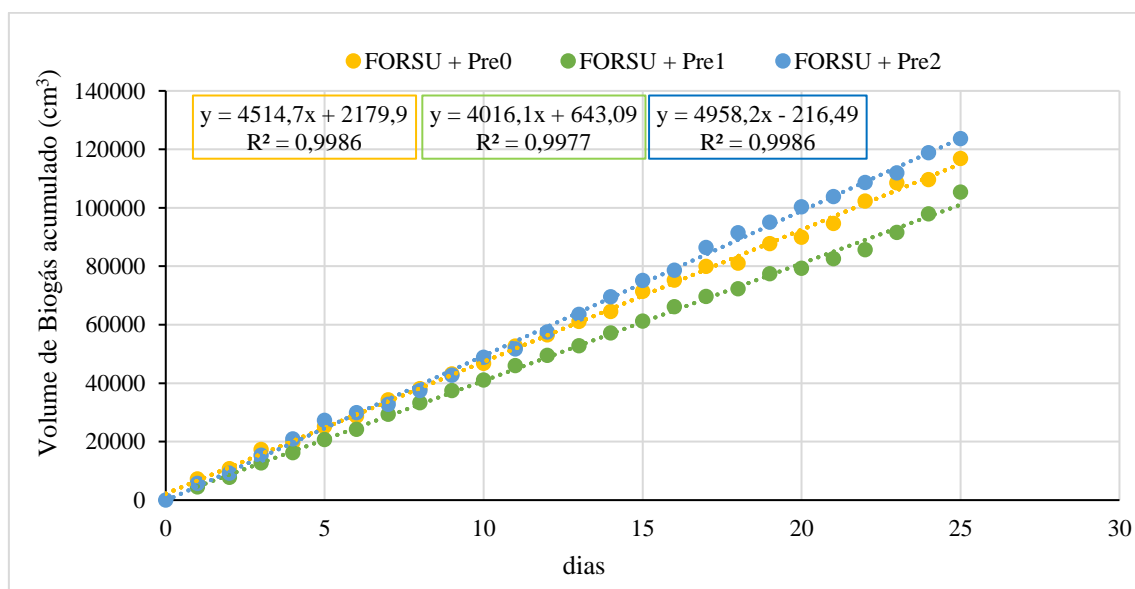


Figura 4.15 – Curvas de biogás acumulado nos ensaios de coDA.

A partir da figura 4.16, verifica-se que não existe diferenças significativas entre os volumes de CH₄ acumulados obtidos nos ensaios de coDA. No entanto, o ensaio de FORSU + Pre2 foi aquele que obteve um volume de CH₄ acumulado ligeiramente superior aos restantes ensaios, com 77889 cm³.

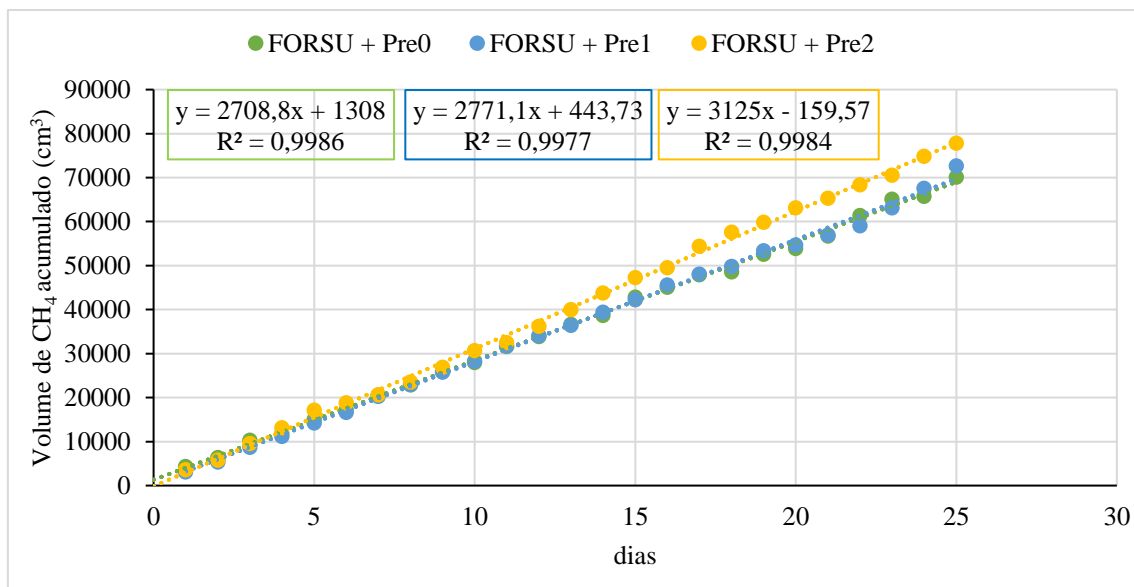


Figura 4.16 - Curvas de CH₄ acumulados nos ensaios de coDA.

Na figura 4.17 apresentam-se as percentagens médias e os desvios-padrão dos teores de CH₄, CO₂ e H₂S presentes no biogás produzido nos ensaios de coDA.

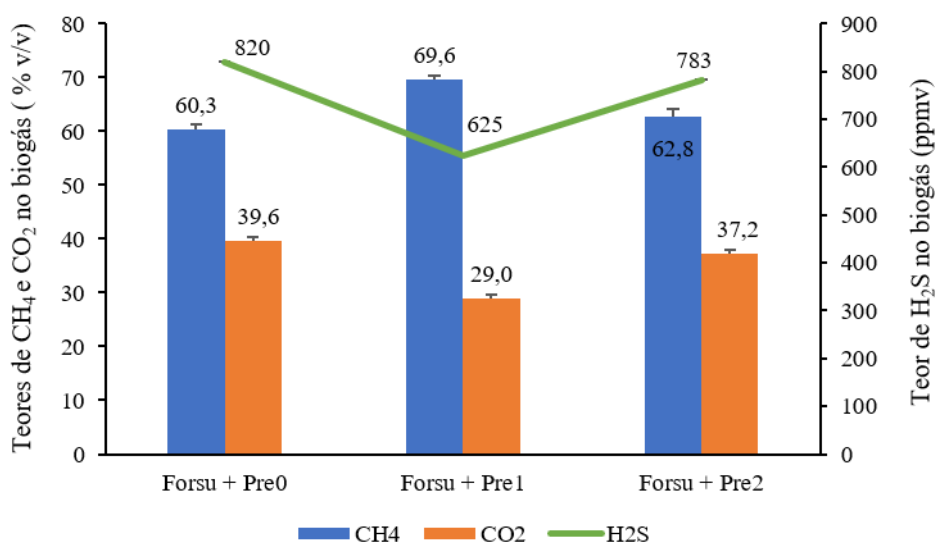


Figura 4.17 – Percentagens médias e desvios-padrão de CH₄, CO₂ e H₂S no biogás produzido nos ensaios de coDA.

O ensaio de FORSU + Pre1 foi o que apresentou a concentração mais elevada de CH₄ (69,6 % v/v), enquanto que o ensaio de FORSU + Pre0 foi o que apresentou a menor concentração de CH₄ (60% v/v). Relativamente aos teores de H₂S e CO₂, o ensaio de FORSU + Pre0, foi o que apresentou as concentrações mais elevadas, com 820 ppmv de H₂S e 39,6 % (v/v) de CO₂, enquanto que o ensaio de FORSU + Pre1, apresentou as concentrações mais baixas de H₂S e CO₂, com valores de 625 ppmv de H₂S e 29,0 % (v/v) de CO₂, respetivamente.

Song et al. (2016) estudaram a coDA de estrume de porco e palha de milho seca, em condições mesófilas, com uma carga orgânica de 3 g SV/(L.dia), tendo obtido uma concentração máxima de CH₄ de 50,0 ± 1,33 % (v/v) no biogás. Por sua vez, Pan-In & Sukasem (2017), num estudo de coDA de estrume de vaca e carolo de milho, em DA mesófila, obtiveram concentrações de CO₂ e CH₄ de 36,97% e 63,03% (v/v), respetivamente. Os resultados obtidos na presente dissertação são superiores aos valores citados pelos autores acima, sendo que a diferença de resultados está relacionada com o pré-tratamento do CM realizado no presente trabalho e pela diferente gama de temperatura. Os autores trabalharam na gama mesófila, enquanto que na presente dissertação se trabalhou na gama termófila.

4.4.8 Rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV

A figura 4.18 apresenta os valores médios da produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada ao digestor anaeróbio, em função dos os ensaios de coDA.

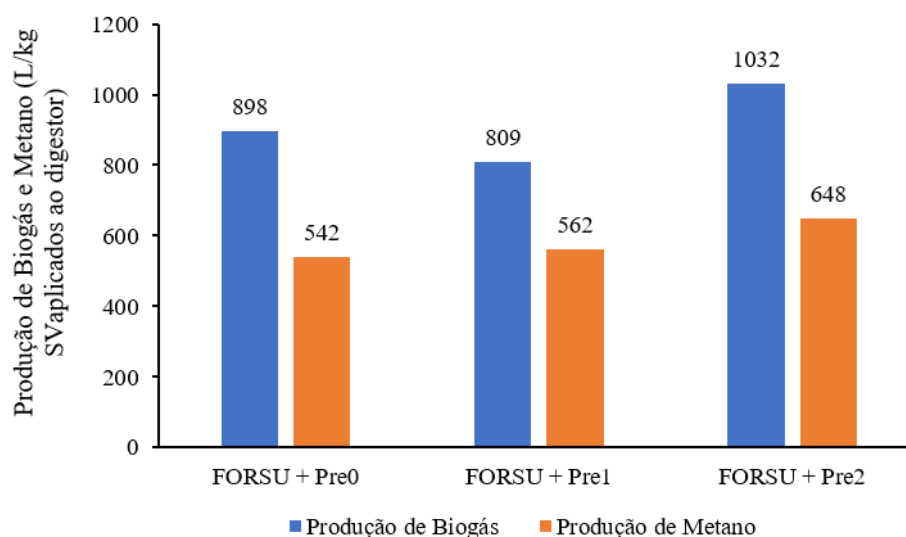


Figura 4.18 – Rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada ao digestor anaeróbio, em função dos ensaios de coDA.

A partir da análise da figura 4.18 verifica-se que o rendimento da produção de biogás foi superior no ensaio de FORSU + Pre2, com 1012 L_{biogás}/kg SV_{aplicados ao digestor}, seguido do ensaio de FORSU + Pre0, com 898 L_{biogás}/kg SV_{aplicados ao digestor}. Por sua vez, o ensaio de FORSU + Pre1 foi o que obteve o menor rendimento de produção de biogás, com 809 L_{biogás}/kg SV_{aplicados ao digestor}. Relativamente ao rendimento da produção de CH₄, o ensaio de FORSU + Pre2, foi o que apresentou o melhor resultado, com 635 L_{metano}/kg SV_{aplicados ao digestor}, em comparação com os ensaios de FORSU + Pre1 e de FORSU + Pre2, que obtiveram rendimentos inferiores, com 562 L_{metano}/kg SV_{aplicados ao digestor} e 542 L_{metano}/kg SV_{aplicados ao digestor}, respetivamente.

Na tabela 4.5 apresentam-se os rendimentos de produção e CH₄ obtidos em diferentes trabalhos de codigestão anaeróbia com resíduos de milho.

Li et al. (2013), a partir da coDA de resíduos alimentares, palha do milho e estrume de galinha, misturados numa razão de 1:1:1, com uma carga de SV de 3 g SV/(L.dia), em regime mesófilo, obtiveram um rendimento de produção de CH₄ de 432 L_{metano}/kg SV, o qual representa um decréscimo de 23% e 32% quando comparado com os valores obtidos nos ensaios de FORSU + Pre1 e Pre2.

Miodrag Belosevic (2014) estudou a coDA de resíduos de milho e estrume de vaca, em condições mesófilas, com uma razão de 2:1, tendo obtido um rendimento de produção de biogás e CH₄ de 480 L_{biogás}/kg SV e 300 L_{metano}/kg SV. Os resultados obtidos na presente dissertação representam um aumento de 41% e 47% nas produções de biogás e CH₄, para o ensaio de FORSU + Pre1 (809 L_{biogás}/kg SV_{aplicados} e 562 L_{metano}/kg SV_{aplicados}) e de 53%, ambos, para o ensaio de FORSU + Pre2 (1012 L_{biogás}/kg SV_{aplicados} e 635 L_{metano}/kg SV_{aplicados}), respetivamente, em comparação com os valores obtidos pelo autor.

Owamah e Izinyon (2015), a partir de mistura de 75% (m/m) de resíduos alimentares e 25% (m/m) de resíduos da casca do milho, com uma carga de SV de 2,5 SV/(L.dia), em regime mesófilo, obtiveram uma produção de biogás e CH₄ de 640 L_{biogás}/kg SV e 408 L_{metano}/kg SV. Os valores obtidos no presente trabalho representam um aumento de 20% e 27% nas produções de biogás e CH₄, respetivamente, para o ensaio de FORSU + Pre1 e de 37% e 36%, respetivamente, para o ensaio de FORSU + Pre2, em comparação com os valores obtidos pelo autor.

Li et al. (2018), com uma mistura de 36% (m/m) palha do milho, 24% (m/m) estrume de animal e 40% (m/m) de tomate, em regime mesófilo, obtiveram uma produção de CH₄ de 379 L_{metano}/kg SV, o qual é inferior a 32% do resultado obtido no ensaio de FORSU + Pre1 e de 42% no ensaio de FORSU + Pre2.

A diferença de resultados obtidos no presente trabalho quando comparados com os valores na tabela 4.5, está relacionado com diferentes fatores, entre os quais se encontram as diferentes condições de operações tais como, temperatura termófila e pré-tratamento do CM. Os autores acima referidos, trabalharam na gama mesófila e sem qualquer pré-tratamento do milho, enquanto que na presente dissertação se trabalhou na gama termófila e com o pré-tratamento do CM.

Tabela 4.5 – Rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada, obtidos em diferentes trabalhos de codigestão anaeróbia com resíduos de milho.

Matérias Primas	Condições de Operação	Rendimentos em biogás	Rendimento em CH ₄	Referência Bibliográfica
Resíduos alimentares, palha do milho e estrume de galinha misturados numa razão de 1:1:1	Carga SV = 3 g SV/ (L.dia) T = 37 °C ± 1 pH = 7,4 C/N = 16,8	N/D	432 L _{CH4} / kg SV	(Li et al., 2013)
Estrume de vaca e milho misturados numa razão 2:1	T = 37° C ± 1 TRH = 28 d C/N = 24,49 – 26,65	480 L _{biogás} / kg SV	300 L _{CH4} / kg SV	(Miodrag Belosevic, 2014)
75% m/m resíduos alimentares 25% m/m casca de milho	Carga de SV = 2,5 g SV/ (L.dia) T = 37° C ± 1 pH = 6,8 C/N = 23,4 TRH = 44 d	640 L _{biogás} /kg SV	408 L _{CH4} / kg SV	(Owamah and Izinyon, 2015)
36% m/m palha do milho 24% m/m estrume de animal 40% m/m tomate	T = 35 °C ± 1 T = 35 d Estado sólido	N/D	379 L _{CH4} / kg SV	(Li et al., 2018)
Hidrolisado de FORSU e CM pré-tratado (2% CM)	Carga de SV = 2,48 g SV/ (L.dia) T = 50 °C ± 1 C/N = 8 TRH: 13 d	809 L _{biogás} /kg SV	562 L _{CH4} / kg SV	Presente trabalho
Hidrolisado de FORSU e CM pré-tratado (10% CM)	Carga de SV = 2,48 g SV/ (L.dia) T = 50 °C ± 1 C/N = 9 TRH: 19 d	1012 L _{biogás} /kg SV	635 L _{CH4} / kg SV	Presente trabalho

N/D: Não disponível

5 CONCLUSÃO

Nos pré-tratamentos do CM realizados com H_2O_2 , à temperatura ambiente, obtiveram-se resultados diferentes. A maior percentagem de remoção de celulose, foi obtida no pré-tratamento Pre1 ($H_2O_2/0,5/2\%$ CM/pH 9,8/4h/23°C), nomeadamente de 11,3%, enquanto que a percentagem mais elevada de remoção de hemicelulose e lenhina, ocorreu no pré-tratamento Pre2 ($H_2O_2/0,5/10\%$ CM/pH 9,8/4h/23°C), respetivamente de 5,7 e 5,6 %. Não ocorreu remoção de hemicelulose e lenhina no pré-tratamento Pre1, enquanto que no pré-tratamento com Pre2, não se registou solubilização de hemicelulose.

Relativamente à concentração de compostos fenólicos, esta foi mais elevada no pré-tratamento com Pre2, com valores de 3,5 mg/L e 5,3 mg/L de ácido cafeico e ácido p-cumárico. No pré-tratamento Pre2 registou-se uma maior produção de compostos fenólicos, nomeadamente os ácidos gálico, sirínico, vanílico, vanilina e protocatecuico, quando comparado com o pré-tratamento Pre1.

A maior solubilização de açúcares ocorreu no pré-tratamento Pre2, com concentrações médias de 653 mg/L de frutose e 751 mg/L de glucose. Por sua vez, o pré-tratamento Pre1, apresentou as menores concentrações de açúcares, nomeadamente de 144 mg/L de glucose e 173 mg/L de frutose.

O ensaio de FORSU + Pre2 foi o que apresentou o maior volume de biogás acumulado, nas condições PTAN, após 25 dias (121258 cm^3), enquanto que, o ensaio de FORSU + Pre1, durante o mesmo periodo, obteve o menor volume de biogás acumulado (105296 cm^3), o que representa um aumento de 13% na produção de biogás entre os ensaios de FORSU + Pre2 e FORSU + Pre1.

A concentração de CH_4 foi mais elevada no ensaio de FORSU + Pre1 com 69,6% (v/v), enquanto que o ensaio de FORSU + Pre0 obteve o menor teor de CH_4 (60% v/v), representando um aumento de 13,7%, do segundo para o primeiro dos ensaios referidos.

O rendimento de produção de biogás foi mais elevado no ensaio de FORSU + Pre2, com $1012\text{ L}_{\text{biogás}}/\text{kg SV}_{\text{aplicados}}$, enquanto que o ensaio de FORSU + Pre1 obteve o menor rendimento com $809\text{ L}_{\text{biogás}}/\text{kg SV}_{\text{aplicados}}$, o que representa um aumento de 20,5%. Por outro lado, o rendimento de produção de CH_4 foi mais elevado no ensaio de FORSU + Pre2, com $\text{L}_{\text{metano}}/\text{kg SV}_{\text{aplicados}}$, enquanto que, o ensaio de FORSU + Pre0, obteve o rendimento mais baixo, com $542\text{ L}_{\text{metano}}/\text{kg SV}_{\text{aplicados}}$, representando um aumento de 17%.

O ensaio de coDA de FORSU + Pre2, foi o melhor ensaio, quer em termos de volume de biogás acumulado, quer em termos de rendimento de produção de CH_4 , quando comparado com os ensaios de FORSU + Pre0 e FORSU + Pre1.

De uma forma geral, conclui-se que, o pré-tratamento do CM e a sua codigestão anaeróbia com hidrolisado de FORSU é uma alternativa interessante e com potencial. Permite, desta forma, a valorização biológica do CM, bem como o aumento da produção e qualidade do biogás.

6 SUGESTOES DE TRABALHO FUTURO

Após a realização da presente dissertação é importante realçar três tópicos interessantes como sugestões para trabalhos futuros:

- Otimização do pré-tratamento Pre2 efetuado ao CM de modo a melhorar a sua eficiência na remoção de celulose, lenhina e hemicelulose. A otimização pode ser realizada através do aumento do tempo de pré-tratamento, bem como um aumento da concentração de H_2O_2 e do pH;
- Análise do conteúdo energético do biogás produzido nos ensaios coDA realizados;
- Avaliação económica da codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU + Pre2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adekunle, K.F., Jude, A.O., 2015. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Adv. Biosci. Biotechnol.* 06, 205–212. <https://doi.org/10.4236/abb.2015.63020>
- Akassou, M., Kaanane, A., Crolla, A., Kinsley, C., 2010. Statistical modelling of the impact of some polyphenols on the efficiency of anaerobic digestion and the co-digestion of the wine distillery wastewater with dairy cattle manure and cheese whey. *Water Sci. Technol.* 62, 475–483. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.235>
- Akindele, A.A., Majid, S., 2018. The toxicity effects of ammonia on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Waste Manag.* 71, 757–766. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.026>
- Amin, F.R., Khalid, H., Zhang, H., Rahman, S., Zhang, R., Liu, G., Chen, C., 2017. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *AMB Express* 7. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0375-4>
- Appels, L., Jan, B., Jan, D., Raf, D., 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog. Energy Combust. Sci.* 34, 755–781. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Arici, Ş., Koçar, G., 2015. The Effect of Adding Maize Silage as a Co-Substrate for Anaerobic Animal Manure Digestion. *Int. J. Green Energy* 12, 453–460. <https://doi.org/10.1080/15435075.2013.848361>
- Ariunbaatar, J., Panico, A., Esposito, G., Pirozzi, F., Lens, P.N.L., 2014. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Appl. Energy* 123, 143–156. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.02.035>
- Arizzi, M., Morra, S., Pugliese, M., Gullino, M.L., Gilardi, G., Valetti, F., 2016. Biohydrogen and biomethane production sustained by untreated matrices and alternative application of compost waste. *Waste Manag.* 56, 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.06.039>
- Aslanzadeh, S., 2014. Pretreatment of cellulosic waste and high-rate biogas production. <https://doi.org/978-91-87525-11-7>
- Avila-Segura, M., Phillip, B., Janet, L.H., Joshua, L.P., 2011. Nutrient and alkalinity removal by corn grain, stover and cob harvest in Upper Midwest USA. *Biomass and Bioenergy* 35, 1190–1195. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.12.010>
- Balat, M., 2011. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Convers. Manag.* 52, 858–875.

<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.08.013>

- Banerjee, G., Car, S., Scott-Craig, J.S., Hodge, D.B., Walton, J.D., 2011. Alkaline peroxide pretreatment of corn stover: Effects of biomass, peroxide, and enzyme loading and composition on yields of glucose and xylose. *Biotechnol. Biofuels* 4, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-16>
- Barros, J., José, C., 2014. *A Cultura do Milho*.
- Battista, F., Debora, F., Ruggeri, B., 2014. Polyphenols Concentration's Effect on the Biogas Production by Wastes Derived from Olive Oil Production. *Chem. Eng. Trans.* 38, 373–378. <https://doi.org/10.3303/CET1438063>
- Baweja, M., Baredar, P., Lal, R.R., 2018. Parametric Evaluation of Bio-Digestion Process-A Review 6, 6–9. <https://doi.org/10.11648/j.ajee.20180601.12>
- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., Kumar, S., 2014. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 36, 91–106. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047>
- Belay, N., Boopathy, R., Voskuilen, G., 1997. Anaerobic transformation of furfural by *Methanococcus deltae* ΔLH. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 2092–2094.
- Carlos Augusto de Lemos Chernicharo, 2007. *Biological Wastewater Treatment Vol.4: Anaerobic Reactors, Biological wastewater treatment in warm climate regions*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Carrere, H., Georgia, A., Rim, A., Fabiana, P., Audrey, B., Gerasimos, L.G., Ferrer, I., 2016. Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresour. Technol.* 199, 386–397. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.007>
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresour. Technol.* 99, 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- Cong, L., Li, Z., Guanqun, Z., Jianguo, X., Long, Z., 2015. Characterization and components separation of corn stover by alkali and hydrogen peroxide treatments. *Polish J. Chem. Technol.* 17, 89–95. <https://doi.org/10.1515/pjct-2015-0035>
- Croce, S., Wei, Q., D'Imporzano, G., Dong, R., Adani, F., 2016. Anaerobic digestion of straw and corn stover: The effect of biological process optimization and pre-treatment on total bio-methane yield and energy performance. *Biotechnol. Adv.* 34, 1289–1304. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.09.004>

- Dhiman, S.S., David, A., Braband, V.W., Hussein, A., Salem, D.R., Sani, R.K., 2017. Improved bioethanol production from corn stover: Role of enzymes, inducers and simultaneous product recovery. *Appl. Energy* 208, 1420–1429. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.09.013>
- Drosg, B., 2013. Process monitoring in biogas plants, IEA Bioenergy. [https://doi.org/retrieved on 15th~March 2017](https://doi.org/retrieved%20on%2015th~March%202017)
- Dutra, E.D., Santos, F.A., Alencar, B.R.A., Reis, A.L.S., de Souza, R. de F.R., Aquino, K.A. da S., Morais Jr, M.A., Menezes, R.S.C., 2017. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of lignocellulosic biomass: status and perspectives. *Biomass Convers. Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-017-0277-3>
- Erickson, M.J., Craig, D., Wallace, T.E., 2011. The Economics of Harvesting Corn Cobs for Energy, Crop Management. <https://doi.org/10.1094/CM-2011-0324-02-RS>
- Ferreira, M., Marques, I.P., Malico, I., 2012. Biogas in Portugal: Status and public policies in a European context. *Energy Policy* 43, 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2012.01.003>
- Ferreira, S., Monteiro, E., Brito, P., Vilarinho, C., 2017. Biomass resources in Portugal: Current status and prospects. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 78, 1221–1235. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.140>
- Gerardi, M.H., 2003. The Microbiology of Anaerobic Digesters. <https://doi.org/10.1002/0471468967>
- Gould, J.M., 1985. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues. *Biotechnol. Bioeng.* 27, 225–231. <https://doi.org/10.1002/bit.260270303>
- Hadj, B.E., Astals, S., Galí, A., Mace, S., Mata-Álvarez, J., 2009. Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW. *Water Sci. Technol.* 59, 1153–1158. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.100>
- Haghighi Mood, S., Hossein Golfeshan, A., Tabatabaei, M., Salehi Jouzani, G., Najafi, G.H., Gholami, M., Ardjmand, M., 2013. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 27, 77–93. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.033>
- Hakawati, R., Smyth, B.M., McCullough, G., De Rosa, F., Rooney, D., 2017. What is the most energy efficient route for biogas utilization: Heat, electricity or transport? *Appl. Energy* 206, 1076–1087. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.08.068>
- Hamelinck, C.N., Van Hooijdonk, G., Faaij, A.P.C., 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass:

- Techno-economic performance in short-, middle- and long-term. *Biomass and Bioenergy* 28, 384–410. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.09.002>
- Harmsen, P., Huijgen, W., López, L., Bakker, R., 2010. Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass. *Food Biobased Res.* 1–49. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2011.08.004>
- Hendriks, A.T.W.M., Zeeman, G., 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 100, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>
- Inanc, B., Matsui, S., Ide, S., 1999. Propionic acid accumulation in anaerobic digestion of carbohydrates An investigation on the role of hydrogen gas. *Water Sci. Technol.*
- Kaliyan, N., Morey, R.V., 2010. Densification characteristics of corn cobs. *Fuel Process. Technol.* 91, 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.01.001>
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., Dawson, L., 2011. The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Manag.* 31, 1737–1744. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.021>
- Lancinha, S.E., 2016. Produção de Biogás como Fonte Renovável de Energia a partir de Resíduos da Cultura do Milho.
- Lee, D.J., Yi, W., Zhiping, Z., Duu Jong, L., Xuehua, Z., Yanyan, J., Danping, J., Jianjun, H., Chao, H., 2017. Photo-fermentative hydrogen production from crop residue: A mini review. *Bioresour. Technol.* 229, 222–230. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.008>
- Li, X., Li, L., Zheng, M., Fu, G., Lar, J.S., 2009. Anaerobic co-digestion of cattle manure with corn stover pretreated by sodium hydroxide for efficient biogas production. *Energy and Fuels* 23, 4635–4639. <https://doi.org/10.1021/ef900384p>
- Li, Y., Park, S.Y., Zhu, J., 2011. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 15, 821–826. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.042>
- Li, Y., Xu, F., Li, Y., Lu, J., Li, S., Shah, A., Zhang, X., Zhang, H., Gong, X., Li, G., 2018. Reactor performance and energy analysis of solid state anaerobic co-digestion of dairy manure with corn stover and tomato residues. *Waste Manag.* 73, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.041>
- Li, Y., Zhang, R., Liu, X., Chen, C., Xiao, X., Feng, L., He, Y., Liu, G., 2013. Evaluating methane production from anaerobic mono- and co-digestion of kitchen waste, corn stover, and

- chicken manure. *Energy and Fuels* 27, 2085–2091. <https://doi.org/10.1021/ef400117f>
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., Ren, G., 2015. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 45, 540–555. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>
- MARCHI, S.L., 2008. Interação entre desfolha e população de plantas na cultura do Milho na Região Oeste do Paraná.
- Matheri, A.N., Ndiweni, S.N., Belaid, M., Muzenda, E., Hubert, R., 2017. Optimising biogas production from anaerobic co-digestion of chicken manure and organic fraction of municipal solid waste. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 80, 756–764. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.068>
- Maurya, D.P., Singla, A., Negi, S., 2015. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech* 5, 597–609. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0279-4>
- McCarty, P.L., 1964. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals. *Chem. Microbiol.* 95, 107–112. https://doi.org/10.1300/J118v09n01_08
- Miodrag Belosevic, M.G.E.D.Z.S.J.R.B., 2014. Degradation of Alizarin Yellow R using UV / H₂ O₂ Advanced Oxidation Process. *Environ. Sci. Technol.* 33, 482–489. <https://doi.org/10.1002/ep>
- Mirzoyan, N., Tal, Y., Gross, A., 2010. Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems: Review. *Aquaculture* 306, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.028>
- Mittal, A., Katahira, R., Donohoe, B.S., Black, B.A., Pattathil, S., Stringer, J.M., Beckham, G.T., 2017. Alkaline Peroxide Delignification of Corn Stover. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 5, 6310–6321. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b01424>
- Nasr, N., Gupta, M., Elbeshbishy, E., Hafez, H., El Nagggar, M.H., Nakhla, G., 2014. Biohydrogen production from pretreated corn cobs. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 19921–19927. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.10.004>
- Neshat, S.A., Mohammadi, M., Najafpour, G.D., Lahijani, P., 2017. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 79, 308–322. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.137>
- Owamah, H.I., Izinyon, O.C., 2015. The effect of organic loading rates (OLRs) on the

- performances of food wastes and maize husks anaerobic co-digestion in continuous mode. *Sustain. Energy Technol. Assessments* 11, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2015.06.002>
- Pan-In, S., Sukasem, N., 2017. Methane production potential from anaerobic co-digestions of different animal dungs and sweet corn residuals. *Energy Procedia* 138, 943–948. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.062>
- Paudel, S.R., Banjara, S.P., Choi, O.K., Park, K.Y., Kim, Y.M., Lee, J.W., 2017. Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. *Bioresour. Technol.* 245, 1194–1205. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.182>
- Rajagopal, R., Massé, D.I., Singh, G., 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresour. Technol.* 143, 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.030>
- Raposo, F., Rubia, M.A. De, Borja, R., 2011. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode : An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 861–877. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>
- Ren, Y., Yu, M., Wu, C., Wang, Q., Gao, M., Huang, Q., Liu, Y., 2017. A comprehensive review on food waste anaerobic digestion: Research updates and tendencies. *Bioresour. Technol.* 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.109>
- Samun, I., Saeed, R., Abbas, M., Rehan, M., Nizami, A.S., Asam, Z.U.Z., 2017. Assessment of Bioenergy Production from Solid Waste. *Energy Procedia* 142, 655–660. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.12.108>
- Sari, F.P., Budiyo, B., 2014. Enhanced biogas production from rice straw with various pretreatment : a review. *Waste Technol.* 2, 17–25. <https://doi.org/10.12777/wastech.2.1.17-25>
- Sch, M., 2009. Numerical Modelling of Anaerobic Digestion Processes in Agricultural Biogas Plants Dissertation Anaerobic Digestion Processes in Agricultural Biogas Plants Dissertation. Dissertação.
- Shawky, B.T., Mahmoud, M.G., Ghazy, E.A., Asker, M.M.S., Ibrahim, G.S., 2011. Enzymatic hydrolysis of rice straw and corn stalks for monosugars production. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 9, 59–63. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2011.05.001>
- Shi, X., Lin, J., Zuo, J., Li, P., Li, X., Guo, X., 2017. Effects of free ammonia on volatile fatty acid accumulation and process performance in the anaerobic digestion of two typical bio-wastes. *J. Environ. Sci. (China)* 55, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.07.006>

- Song, X., Keqiang, Z., Bingya, H., Junfeng, L., Zhongwei, Z., Lianzhu, D., 2016. Anaerobic Co-digestion of Pig Manure with Dried Maize Straw 11, 8914–8928.
- Song, Z., Yang, G., Liu, X., Yan, Z., Yuan, Y., Liao, Y., 2014. Comparison of seven chemical pretreatments of corn straw for improving methane yield by anaerobic digestion. *PLoS One* 9, 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093801>
- Strzalka, R., Schneider, D., Eicker, U., 2017. Current status of bioenergy technologies in Germany. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 72, 801–820. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.091>
- Su, Y., Du, R., Guo, H., Cao, M., Wu, Q., Su, R., Qi, W., He, Z., 2015. Fractional pretreatment of lignocellulose by alkaline hydrogen peroxide: Characterization of its major components. *Food Bioprod. Process.* 94, 322–330. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.04.001>
- Sun, C., Cao, W., Banks, C.J., Heaven, S., Liu, R., 2016. Biogas production from undiluted chicken manure and maize silage: A study of ammonia inhibition in high solids anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 218, 1215–1223. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.082>
- Sun, C., Liu, R., Cao, W., Yin, R., Mei, Y., Zhang, L., 2015. Impacts of Alkaline Hydrogen Peroxide Pretreatment on Chemical Composition and Biochemical Methane Potential of Agricultural Crop Stalks. *Energy and Fuels* 29, 4966–4975. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b00838>
- Sun, R.C., Fang, J.M., Tomkinson, J., 2000. Delignification of rye straw using hydrogen peroxide. *Ind. Crops Prod.* 12, 71–83. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(00\)00039-X](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00039-X)
- Sun, S., Sun, S., Cao, X., Sun, R., 2016. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresour. Technol.* 199, 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.061>
- T. Abbasi, S. M. Tauseef, and S.A.A., 2012. Anaerobic digestion for global warming control and energy generation - An overview. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 3228–3242. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.02.046>
- Torney, F., Moeller, L., Scarpa, A., Wang, K., 2007. Genetic engineering approaches to improve bioethanol production from maize. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18, 193–199. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.03.006>
- Torre, P., Aliakbarian, B., Rivas, B., Domínguez, J.M., Converti, A., 2008. Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. *Biochem. Eng. J.* 40, 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.02.005>

- Vasco-Correa, J., Khanal, S., Manandhar, A., Shah, A., 2017. Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies, Bioresource Technology. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>
- Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J., Meng, L., 2009. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy* 33, 848–853. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.01.007>
- Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.L., 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresour. Technol.* 99, 7928–7940. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.044>
- Weiland, P., 2010. Biogas production: Current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 849–860. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>
- Xie, S., Hai, F.I., Zhan, X., Guo, W., Ngo, H.H., Price, W.E., Nghiem, L.D., 2016. Anaerobic co-digestion: A critical review of mathematical modelling for performance optimization. *Bioresour. Technol.* 222, 498–512. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.015>
- Yuan, H., Zhu, N., 2016. Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 58, 429–438. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.261>
- Zarkadas, I.S., Sofikiti, A.S., Voudrias, E.A., Pilidis, G.A., 2015. Thermophilic anaerobic digestion of pasteurised food wastes and dairy cattle manure in batch and large volume laboratory digesters: Focussing on mixing ratios. *Renew. Energy* 80, 432–440. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.02.015>
- Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., Tan, T., 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 38, 383–392. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.038>